

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
ADLİ TIP ENSTİTÜSÜ
FEN BİLİMLERİ ANA BİLİM DALI**

**ADLİ BİLİMLERDE DİŞ ÖRNEKLERİNDE DNA
TEKNOLOJİSİNİN KULLANIMI**

DOKTORA TEZİ

HAZIRLAYAN: NİLÜFER AKMAN DOĞAN

DANIŞMAN : DOÇ. DR. E. HÜLYA YÜKSELOĞLU

İSTANBUL- 2015

İstanbul, 06.05.2015

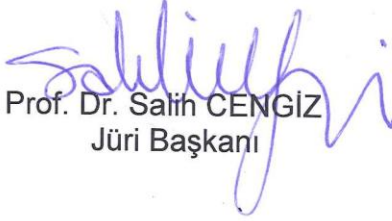
**İ.Ü.ADLİ TIP ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ
FEN BİLİMLERİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI'NA**

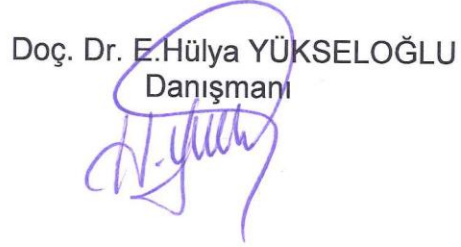
Lisansüstü Öğretim Yönetmeliğinin 50.maddesi uyarınca Enstitünüz Fen Bilimleri Anabilim Dalı'nın Doktora öğrencisi Nilüfer AKMAN DOĞAN'ın

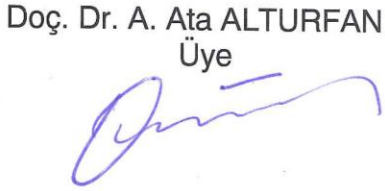
“Adli Bilimlerde Diş Örneklerinde DNA Teknolojisinin Kullanımı”

Adlı tezi jürimizce tetkik edilmiş ve kendisine tez savunması yaptırılmıştır.

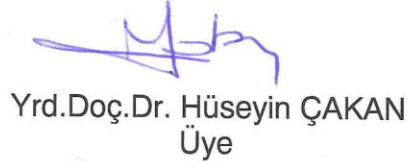
Yukarıda adıgeçen tezin ve tez savunmasının kabul edilmesine oy birliğiyle karar verilmiştir.


Prof. Dr. Salih CENGİZ
Jüri Başkanı


Doç. Dr. E.Hülya YÜKSELOĞLU
Danışmanı


Doç. Dr. A. Ata ALTURFAN
Üye


Yrd. Doç. Dr. Nagehan ERSOY TUNALI
Üye


Yrd.Doç.Dr. Hüseyin ÇAKAN
Üye

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin 11183 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

TEŞEKKÜR

Öncelikle Adli Tıp Enstitüsü Müdürü Sayın Prof.Dr. İmdat Elmas'a çok teşekkür ederim.

Tez çalışmam süresince ilgi, destek ve yardımlarını esirgemeyen, araştırmanın her aşamasında fikirleri ve yapıcı eleştirileriyle çalışmama yön veren tez danışmanım Sayın Doç. Dr. E. Hülya Yükseloğlu'na ve tez izleme jürimde bulunan Sayın Prof.Dr. Salih Cengiz ve Yrd. Doç. Dr. Nagehan Ersoy Tunalı'ya teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Araştırmanın laboratuvar çalışmaları aşamasında büyük emeği geçen sevgili Laborant Gülten Rayimoğlu'na ve sonuçların okunmasında yardımcı olan Arş. Gör. Fatma Çavuş'a,

Tez çalışması süresince her zaman yardımcı esirgemeyen ve her ihtiyacım olduğunda yanına koştüğüm Fen Bilimleri A.B.D. Sekreteri Elvan Emral Uğur'a çok teşekkür ederim.

Çalışmanın oluşmasına katılımlarıyla yardım eden ve çalışmanın isimsiz kahramanları olan tüm örnek sahiplerine (donörlere),

Araştırmam için gerekli örnekleri toplamak konusunda büyük emek veren sevgili annem Müfide Akman ve babam Selahattin Akman'a,

Çevirilerde ve bilgisayar kullanımında yardımcı olan, manevi desteğe ihtiyacım olduğunda yanımda yer alan, istatistik hesaplama ve yorumlama kısmında yardımcı olan ve akademik kariyer yolunda da birlikte yürüdüğüm sevgili eşim Murat Doğan'a,

Laboratuvar çalışmalarım esnasında dünyaya gelen ve varlığıyla bize sonsuz mutluluk katan oğlumuz Ömer Cenker Doğan'a,

Bana her zaman destek olan, her konuda yardımcı olmaktan kaçınmayan, olumlu eleştirileriyle beni teşvik eden, ağabeyime ve biricik kardeşime çok teşekkür ederim.

Ayrıca maddi desteklerinden dolayı TÜBİTAK ve İ.Ü. Bilimsel Araştırmaları Destekleme Birimine teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
RESİMLER LİSTESİ.....	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	viii
TABLolar LİSTESİ.....	ix
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. DNA ve Adli Bilimler.....	3
2.1.1. STR (Short Tandem Repeat).....	4
2.1.2. 13 CODIS STR Lokusları.....	5
2.1.3. PCR (Polimeraz Zincir Tepkimesi).....	8
2.1.4. Kapiler Elektforez.....	9
2.2. İnsan Kalıntılarında Kimliklendirme Amaçlı Örnek Toplanması.....	11
2.3. Dişin Yapısı.....	14
2.4. Diş ve Dişe Ait Dokuların Adli Bilimlerde Kullanımı.....	21
2.4.1. Felaket Kurbanlarının Kimliklendirilmesinde Dişlerin Önemi.....	22
2.4.2. Diş ile Yaş Tahmini.....	25
2.4.3. Diş İsrık İzi.....	27
2.3.4. Dişe Ait Dokulardan DNA Analizi.....	28
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	31
3.1. Materyal.....	31

3.1.1. Diş Örnekleri.....	31
3.1.2. Ağız içi sürüntü örnekleri	33
3.2. Kullanılan Kitler, Kimyasallar ve Cihazlar	34
3.3. Yöntemin Uygulanması.....	35
3.3.1. Diş Örneklerinin İzolasyon için Hazırlanması	35
3.3.2. DNA İzolasyonu.....	36
3.3.3. DNA Miktar Tayini	39
3.3.4. PCR Protokolü	40
3.3.5. Saflaştırma.....	42
3.3.6. PCR ürünlerinin ABI 310 Genetik Analizör Cihazında Analizi	42
4. BULGULAR	44
4.1. Diş ve Ağız İçi Sürüntü Örneklerinden Elde Edilen DNA Miktar Tayini	
Sonuçları	45
4.2. Diş ve Ağız İçi Sürüntü Örneklerine ait STR Profilleri	49
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	67
ÖZET	74
SUMMARY	75
KAYNAKLAR	76
EKLER	88
EK1 Etik Kurul Onayı.....	88
EK2 Aydınlatılmış Onam Formu	89
ÖZGEÇMİŞ	92

RESİMLER LİSTESİ

1. Resim 3.1. Tutuşturucu madde kullanılarak 10 dak. süresince yakılan diş örnekleri.....	32
2. Resim 3. 2. 10 cm derinliğindeki bahçe toprağında bekletilen diş örnekleri.....	32
3. Resim 3.3. Deniz suyunda bekletilen diş örnekleri.....	33
4. Resim 3.4. Diş örneklerinin parçalanmasında kullanılan TissueLyser II Cihazı.....	35
5. Resim 3.5. <100 mg tartılarak ephendorf tüplere konulan diş tozu örnekleri.....	36
6. Resim 3.6. a) 14.000 rpm de 1 dak santrifüj sonrası oluşan süpernatant. b) filtre kolona aktarılan süpernatant.....	37
7. Resim 4.1. Taze diş örneklerine ait bir elektroferogram.....	50
8. Resim 4.2. Taze örneklere ait kontrol ağız içi sürüntü örneklerine ait bir elektroferogram görüntüsü.....	52
9. Resim 4.3. Yakılmış diş örneklerine ait bir elektroferogram.....	54
10. Resim 4.4. Yakılmış örneklere ait kontrol ağız içi sürüntü örneklerine ait bir elektroferogram görüntüsü.....	56
11. Resim 4.5. Deniz suyunda bekletilmiş diş örneklerine ait bir elektroferogram.....	58
12. Resim 4.6. Deniz suyunda bekletilmiş örneklere ait kontrol ağız içi sürüntü örneklerine ait bir elektroferogram görüntüsü.....	60
13. Resim 4.7. Suda bekletilmiş diş örneklerine ait bir elektroferogram.....	62
14. Resim 4.8. Toprakta bekletilmiş örneklere ait kontrol ağız içi sürüntü örneklerine ait bir elektroferogram görüntüsü.....	64

ŞEKİLLER LİSTESİ

1. Şekil 2.1. Adli olgularda DNA testi basamakları	11
2. Şekil 2.2. Dişlerin isimlendirilmesi ve numaralandırılması	14
3. Şekil 2.3. Dişe ait dokusal kısımlarını (mine, dentin ve semet) ve dişin yapısal kısımlarını (kök ve taç kısmı) gösteren şekil	17
4. Şekil 2.4. Periodontal ligament ve çevre dokular	18
5. Şekil 2.5. Dişe ait dokuların diş üzerindeki yerleşimleri	19
6. Şekil 2.6. Pozitif kimliklendirmeye bir örnek	24
7. Şekil 2.7. Yan yana iki dental grafi seti	25
8. Şekil 2.8. Sementum üzerindeki yıllık birikim çizgileri	26
9. Şekil 3.1. Identifiler 16 STR lokuslarına ait alelik cetvel	43

TABLULAR LİSTESİ

1. Tablo 2.1. Genel olarak kullanılan otozomal STR lokusları.....	7
2. Tablo 2.2. İnsan çenesinde bulunan diş sayıları.....	14
3. Tablo 2.3. İnsan çenesinde bulunan dişlerin adları ve genel özellikleri.....	15
4. Tablo 3.1. AmpFISTR Identifiler PCR Amplifikasyon kit ile çoğaltılan lokuslar.....	41
5. Tablo 4.1. Taze örneklerle ait diş ve ağız içi sürüntü örneklerinden izole edilen DNA miktarları.....	45
6. Tablo 4.2. Yakılmış dişler ve ağız içi sürüntü örneklerinden izole edilen DNA miktarları.....	46
7. Tablo 4.3. Deniz suyunda bekletilmiş dişler ve ağız içi sürüntü örneklerinden izole edilen DNA miktarları.....	47
8. Tablo 4.4. Toprakta gömülerek bekletilen dişler ve ağız içi sürüntü örneklerinden izole edilen DNA miktarları.....	48
9. Tablo 4.5. Taze diş örneklerinden elde edilen STR profilleri.....	49
10. Tablo 4.6. Taze diş örneklerine ait kontrol ağız içi sürüntü örneklerine ait STR profilleri.....	51
11. Tablo 4.7. Yakılmış diş örneklerine ait STR profilleri.....	53
12. Tablo 4.8. Yakılmış diş örneklerine ait kontrol ağız içi sürüntü örneklerine ait STR profilleri.....	55
13. Tablo 4.9. Deniz suyunda bekletilmiş diş örneklerine ait STR profilleri.....	57
14. Tablo 4.10. Deniz suyunda bekletilmiş diş örneklerine ait kontrol ağız içi sürüntü örneklerine ait STR profilleri.....	59
15. Tablo 4.11. Toprakta gömülü halde bekletilmiş diş örneklerine ait STR profilleri.....	61

16. Tablo 4.12. Toprakta gömülü halde bekletilmiş diş örneklerine ait kontrol ağız içi sürüntü örneklerine ait STR profilleri.....	63
17. Tablo 4.13. STR profillerinin başarı oranları	66

KISALTMALAR

bç	: baz çifti
CODIS	: Kombine DNA İndeks Sistemi
D I	: Taze Diş Örnekleri
D II	: Yakılmış Diş Örnekleri
D III	: Deniz Suyunda Bekletilmiş Diş Örnekleri
D IV	: Toprakta Gömülmüş Diş Örnekleri
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
DVI	: Felaket Kurbanlarının Kimliklendirilmesi
mtDNA	: Mitokondriyel DNA
SI	: Taze Örneklere Ait Ağız İçi Sürüntü Örnekleri
S II	: Yakılmış Diş Örneklerinin Sahiplerine Ait Ağız İçi Sürüntü Örnekleri
S III	: Deniz Suyunda Bekletilmiş Diş Örneklerinin Sahiplerine Ait Ağız İçi Sürüntü Örnekleri
S IV	: Toprakta Gömülmüş Diş Örneklerinin Sahiplerine Ait Ağız İçi Sürüntü Örnekleri
STR	: Short Tandem Repeat (Kısa Ardışık Tekrar Dizinleri)
PCR	: Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism (Sınırlandırılmış Parçacık Uzunluk Polimorfizmi)
VNTR	: Variable Number of Tandem Repeat (Değişken Sayıda Ardışık Tekrar Dizinleri)

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Kimlik tespiti kavramı, yaşayan veya ölü bir insanın tanınmasını, tanımlanmasını ve diğer insanlardan ayırt edilmesini sağlayan özelliklerin ortaya konulması olarak açıklanabilir (Tuğ A. ve Yaşar F. 2006).

DNA teknolojilerinin kullanılması adli kimliklendirme prosedürlerinde devrim yaratmıştır. DNA'ya dayalı kimliklendirme yöntemi, yaklaşık 30 yıl önce bilimsel literatüre girmiş ve sağladığı aşamalara paralel olarak, felaketler sonucu ortaya çıkan kimliklendirme ihtiyaçlarını karşılamada en önemli araç olarak varlığını sürdürmüştür (Decorte R. 2010).

Diş dokusunun nem, yüksek ısı, bakteri ve mantar aktivasyonuna dayanıklı olması, uzun süre morfolojik özelliklerini koruyabilmeleri, sıklıkla cesetle birlikte bulunabilmeleri ve bu nedenle zaman kaybını en aza indirmeleri, ayrıca kişisel özelliklere sahip olmaları kimlik tespitinde kullanılmalarının temel nedenleridir (Gustavson G. 1966, Yaşar F. ve ark 2002, Afşin H. ve Günce E. 2002).

Dişler, epitel, bağ doku, kas ve kemik dokularının koruması altında olan DNA için çok iyi bir kaynaktır. Yapısındaki pulpa, dentin, sementum ve periodontol ligament iplikleri bol miktarda kaliteli DNA ihtiva ederken özellikle Kısa Ardışık Tekrarlar (Short Tandem Repeat-STR) analizi için zengin bir kaynak olarak değer kazanmaktadır. Diş ve kemiğin yapısında bulunan DNA insan kalıntılarının çürümesinin ardından senelerce korunabilir (Mayal S. ve ark 2013, Datta ve ark 2012, Tuğ A. ve Yaşar F. 2006).

Kimliklendirmede önemli bir kanıt olarak dişler çeşitli çevresel koşullara maruz kalmış şekilde bulunabilirler. Bir yangın veya patlama olayı sonrasında yanmış diş örneklerinden veya antik kazılarda çıkan diş kalıntılarında kimliklendirme amaçlı DNA profili elde edilmesine dair bir çok çalışma bulunmaktadır (Ricaud ve ark 2005, . Rohland & Hofreiter 2007, Silva ve ark 2012, Sanjila ve ark 1991, Adler ve ark 2011, Hill ve ark 2010, Schwark ve ark 2011).

Buna karşın yaptığımız tüm literatür taramalarında ülkemizde yanma, toprakta, deniz suyunda beklemiş olma gibi farklı çevresel koşulların hepsinin birlikte dişler ve dişlerden DNA profili elde etme üzerine etkilerini çok miktarda diş örneği kullanarak araştıran yayına rastlanmamıştır.

Tüm bu bilgilerin ışığında kimliklendirme amaçlı karşımıza yanmış, toprak altında veya denizin dibinde senelerce beklemiş bir diş örneği çıkabilme olasılığı bulunmaktadır.

Bu çalışmanın amacı, çeşitli çevresel etkilere maruz kalmış ve yanmış diş örneklerinden DNA elde edebilme ve elde edilen DNA'lardan STR profillerinin çalışılarak bu profillerin kimliklendirmede kullanılabilirliğinin saptanmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. DNA ve ADLİ BİLİMLER

DNA tek hücreli bakterilerden en büyük memelilere kadar yaşam için doğanın korunmuş kodudur. Bugün insan genomunda 23 kromozom arasında dağılan 3 milyar baz çifti olduğu ve proteinleri kodlayan 30.000 genin varlığı bilinmektedir. Bu, tüm DNA'nın uzunluğunun %5 inden daha azını temsil etmektedir. İnsan genom projesi, bilim adamlarının önceden bildikleri gibi genomun yüksek tekrar eden diziler şeklinde kodlama yapmayan bilgiler içerdiğini doğrulamıştır (Hildebrand 2011). Hatta insan genom projesi tamamlanmadan önce DNA'nın insan kimliklendirmesine ait sorulara cevap verebilecek bir yeteneğe sahip önemli bir araç olarak kullanılabilmesi ve cevapların bu tekrarlanan, son derece değişken dizileri içeren bölgeleri analiz ve karşılaştırma yoluyla geleceği fark edilmiştir. Adli bilimlerde DNA düzeyindeki araştırma 1980 yılında Ray White tarafından VNTR's (Variable Number of Tandem Repeats- Değişik Sayıda Ardışık Tekrar Dizileri) belirteçlerinin RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism- Sınırlı Parçacık Uzunluk Polimorfizmi) analizi ile yapılmıştır. VNTR lokusları 6-100 bp uzunluğundaki birimlerin ardışık tekrarlanması ile oluşan, homojen dağılım gösteren ve orta düzeyde bir polimorfizm içeren DNA yapılarıdır. RFLP analizinin degrade (bozulmuş) örneklerde başarılı sonuç vermemesi, analizlerin uzun sürmesi, radyoaktif madde kullanılması, fazla miktarda ve yüksek kalitede DNA örneğine ihtiyaç duyulmasından dolayı adli bilimlerde kullanımı kısıtlanmıştır. 1990'lı yıllardan itibaren DNA'nın çoğaltılmasının mümkün olması gibi avantajlara sahip olan polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemi RFLP yöntemine tercih edilmiş, daha sonra PCR tabanlı testlere yapılan çok sayıda iyileştirme ile adli topluluklar kısa tekrar dizileri (STR) üzerinde uzlaşma sağlanmıştır (Botstein ve ark.1980, Gill ve ark1985, Jeffreys 1987, Li ve Graur 1991, Conealy 1994, Budowle ve Beachtel 1990, Giusti ve Budowle 1995, Jackson ve ark 2006, Hildebrand D. 2011).

STR'lerin PCR da çoğaltılabilmesi yöntemi ile degrade örneklerde de çalışabilmek mümkün olmuştur. Ayrıca metodun ayrımcılık gücü ve uyumluluğu veritabanı uygulamalarına da uygundur ve ilave DNA işaretleyicilerin kullanılmasına rağmen STR tipleme adli laboratuvarlarda en çok tercih edilen yöntem oldu ve altyapı, eğitim, veritabanları ve

akreditasyon çalışmalarına yapılan yatırımlar ile gelişmelerin devam etmesi sağlanmıştır (Butler J.M. 2012).

Yüksek duyarlılık, ayırım gücü ve güvenilirliği oldukça fazla olan DNA analizlerinin rutin uygulamaya geçmesiyle birlikte daha önce güvenilir teknikler olarak bilinen kan grup ve alt gruplarının tayini ile polimorfik enzim ve protein çalışmalarına son verilmiştir. DNA incelemeleri minimal başlangıç örneği gerektirdiğinden olay yerinden alınan eser miktarlardaki materyallerin analizi ile sonuca varılabilir (Weedn V.W. ve Hicks J.W. 1998).

1980'lerin ortalarında tanıtıldığından bu yana DNA tipleme adli bilimler ve olay yerinde failleri eşleştirmek için yasal güç yeteneğiyle devrim yaratmıştır. İnsanların karıştığı olaylarda en çok bulunan ve çok küçük miktarlarda bile netice verebilen biyolojik deliller DNA içerdiklerinden dolayı adli bilimler açısından önemlidirler. Dünyada her yıl binlerce vaka olay yerlerindeki sessiz bir biyolojik tanık olan DNA'nın gücü ile suçlu şüphelilerin cezalandırılması ve masum olanların serbest bırakılmasıyla sonuçlanmaktadır (Toothman W.H. ve ark 2008).

2.1.1.STR (Short Tandem Repeat – Kısa Ardışık Tekrar Dizileri)

Bir STR lokusu 400-500 baz çiftine kadar uzanan kısa aynı 4 veya beş baz çiftinin tekrarlı şekilde düzenlenmesinden oluşur ve tekrar sayısı bireyler arasında oldukça değişken olabilir, bu da kimliklendirme amacıyla STR'leri kullanmayı etkili hale getirir. Her insan annesinden ve babasından kalıtım yoluyla geçen bazı STR'lere sahiptir. Ancak hiç kimsenin sahip olduğu STR'ler ebeveynlerinin aynısı değildir. Bir kişinin STR'lerinin sadece kendine özgü ve tek olması adli kimliklendirme ve babalık testi gibi durumlarda bilimsel belirteç olarak yardım sağlar. STR'lerin sayısız varyasyonları olduğundan iki farklı bireyin eşleşme şansı çok uzaktır (Butler J.M. 2012).

STR tekrar dizileri, tekrar eden birim uzunluğuna göre adlandırılır. Dinükleotid tekrarları iki nükleotid tekrarına sahiptir ve yan yana devamlı tekrar eder. Trinükleotid tekrar ünitesinde üç nükleotid, tetranükleotidde dört, pentanükleotidde beş ve hegzanükleotid ünitesinde altı nükleotid tekrarı bulunur. Teorik olarak mono-, di-, tri-, tetra-, penta-, ve hegzanükleotid tekrarları için sırasıyla 4, 16, 64, 256, 1024 ve 4096 olası motif vardır (Jin L. ve ark 1994). Bununla birlikte mikrosatellitler ardışık şekilde tekrar ettiğinden bazı motifler diğerleriyle

eşdeğerdir. Bu sebeple tetranükleotid tekrarları insan kimliklendirmesi için en çok kullanılan STR belirteçleridir (Buttler J.M. 2012).

STR dizileri, sadece tekrar ünitesinin uzunluğuna ve sayısına göre değişkenlik göstermez. Aynı zamanda titizlik içinde artan bir tekrar desenine sahiptirler. STR'ler tekrar desenlerine göre kategorilere ayrılmışlardır. Basit tekrarlar, aynı uzunluk ve dizileri, birleşik tekrarlar, iki veya daha fazla bitişik basit tekrarı, kompleks tekrarlar ise değişken ünite uzunluğunda birçok tekrar bloğu ihtiva eder (Urguart ve ark 1994).

Bir STR lokusu için bütün aleller tam tekrar birimi içermez. Hatta basit tekrarlar ile tam tekrar üniteli aleller arasında ilgisiz aleller içerebilir. Mikrovaryantlar eksik tekrar birimleri içeren alellerdir. Mikrovaryantlara verilebilecek en yaygın örnek, TH01 lokusundaki 9 tetranükleotid tekrarı ve 3 nükleotid (tam olmayan) tekrara sahip 9.3 alelidir. Bunun nedeni yedinci tekrardaki AATG dizisindeki bir adenin veya TACT dizisindeki bir timin kaybıdır (Puers ve ark 1993).

Adli Bilimlerde kullanılacak STR bölgelerinin standardizasyonunu sağlamak için ticari girişimler sonucu standart STR kitleri üretilmiştir. Bu kitlerde kullanılan STR belirteçlerinin ayırım gücünün yüksek, mutasyon oranı düşük ve amplifikasyon hassasiyeti yüksektir (Sparkes ve ark 1996).

2.1.2. 13 CODIS STR Lokusları

Amerika Birleşik Devletleri başlangıçta özellikle Birleşik Krallık Adli Bilimler Servisi'ndeki çalışmalar olmak üzere kimliklendirme konusunda Avrupa'nın gerisinde kalmıştı. Ancak 1996'nın başlarında FBI laboratuvarları sponsorluğunda geniş bir adli bilimler topluluğu CODIS olarak bilinen ulusal veri tabanı içine eklenmesi için çekirdek bir STR lokusu oluşturmak üzere çalışmışlardır. Nisan 1996 yılında başlayan bu STR projesi, 22 DNA tipleme laboratuvarının çalışmalarıyla sadece 17 STR lokusunun (CSF1PO, F13A01, F13B, FES/FPS, FGA, LPL, TH01, TPOX, vWA, D3S1358, D5S818, D7S820, D8S1179, D13S317, D16S539, D18S51 ve D21S11) değerlendirilmesiyle Kasım 1997 yılında sonuçlanmıştır (Buttler 2012).

13-14 Kasım 1997 tarihindeki STR projesi toplantısında 13 çekirdek STR lokusu geleceğin CODIS ulusal DNA veri tabanının temelini oluşturmak üzere seçilmiştir. Bu 13 CODIS çekirdek lokusları şu şekildedir: CSF1PO, FGA, TH01, TPOX, vWA, D3S1358, D5S818, D7S820, D8S1179, D13S317, D16S539, D18S51 ve D21S11 (Butler 2006).

13 CODİS çekirdek lokusu test edildiğinde birbiriyle akraba olmayan bireyler arasında eşleşme olasılığı bir trilyonda birden azdır. Bu 13 CODIS STR lokuslarının içerisinde en polimorfik olanlar FGA, D18S51 ve D21S11 dir. TPOX, CSF1PO ve TH01 ise genellikle bireyler arasında az miktarda çeşitlilik gösteren lokuslardır. 13 CODIS STR lokusları hakkında (ve 10 diğer yaygın olarak kullanılan lokusları) kromozomal yerleşimleri, insan genomu referans dizisindeki fiziksel pozisyonları, referans aleldeki DNA dizisi için Genbank erişim numarası, tekrar motifleri ve alel sayıları gibi özet bilgiler Tablo 2.1. de verilmiştir (Buttler J.M. 2012).

Tablo 2.1. Genel olarak kullanılan Otozomal STR lokusları (13 CODIS çekirdek lokusları koyu renkle) gösterilmiştir (Buttler 2012).

Lokus (UniSTS)*	Kromozomal Yerleşimi	Fiziksel Pozisyonu GRCh37 Assembly	GenBank Erişim numarası (allele sayısı)	Kategori ve Tekrar Motifi	Allele Sayıları (Appendix 1)
D1S1656 (58809)	1q42	Chr 1 230905 Mb	G07820 (15.3)	Bileşik TAGA	8 to 20.3
TPOX (240638)	2p253 thyroid peroxidase, 10th intron	Chr 2 1.493 Mb	M68651 (11)	Basit AAT	4 to 16
D2S441 (71306)	2p14	Chr 2 68.239 Mb	AC079112 (12)	Bileşik TCTA/TCAA	8 to 17
D2S1338 (30509)	2q35	Chr 2 218.879 Mb	AC010136 (23)	Bileşik TCTA/TCAA	10 to 31
D3S1358 (148226)	3p2131	Chr 3 45.582 Mb	AC099539 (16)	Bileşik TCTA/TCAA	6 to 26
FGA(240635)	4q313 alpha fibrinogen, 3rd intron	Chr 4 155.509 Mb	M64982 (21)	Bileşik TCTA/TCAA	12.2 to 51.2
D5S818 (54700)	5q23.2	Chr 5 123.111 Mb	AC008512 (11)	Basit AGAT	4 to 29
CSF1PO (156169)	5q33.1 c-fms proto-oncogene, 6th	Chr 5 149,455 Mb	X14720 (12)	Basit AGAT	5 to 17
SE33 (ACTBP2) (none reported)	6q14 beta-actin related pseudogene	Chr 6 88.987 Mb	V00481 (26.2)	Complex AAAG	3 to 49
D7S820 (74895)	7q21.11	Chr 7 83.789 Mb	AC004848 (13)	Basit GATA	5 to 16
D8S1179 (83408)	8q24.13	Chr 8 125.907 Mb	AF16671 (13)	Bileşik TCTA/TCTG	6 to 20
D10S1248 (51457)	10q26.3	Chr 10 131.093 Mb	AL391869 (13)	Basit GGAA	7 to 19
TH01 (240639)	11p15.5 tyosine hydroxylase, 1st intron	Chr 11 2.192 Mb	D00269 (9)	Basit TCAT	3 to 14
vWA (240640)	12p13.31 von Willebrand Factor, 40th	Chr 12 6.093 Mb	M25858 (18)	Bileşik TCTA/TCTG	10 to 25
D12S391 (2703)	12p13.2	Chr 12 12.450 Mb	G08921 (20)	Compound AGAT/AGAC	13 to 27.2
D13S317 (7734)	13q31.1	Chr 13 82.692 Mb	AL353628 (11)	Simple TATC	5 to 17
Penta E (none reported)	15q26.2	Chr 15 97.374 Mb	AC027004 (5)	Basit AAAGA	5 to 32
D16S539 (45590)	16q24.1	Chr 16 86.386 Mb	AC024591 (11)	Basit GATA	4 to 17
D18S51 (44409)	18q21.33	Chr 18 60.949 Mb	AP001534 (18)	Basit AGAA	5.3 to 40
D19S433 (33588)	19q12	Chr 19 30.416 Mb	AC008507 (14)	Bileşik	5.2 to 20
D21S11 (240642)	21q22.3	Chr 21 20.554 Mb	P000433 (29.1)	Complex TCTA/TCTG	12 TO 43.2
Penta D (none reported)	21q22.3	Chr 21 45.956 Mb	AP001752 (13)	Simple AAAGA	1.1 to 19
D22S1045 (49680)	22q12.3	Chr 22 37.536 Mb	AL022314 (17)	Simple ATT	7 to 20

2.1.3. PCR (Polimeraz Zincir Tepkimesi)

PCR, hedef DNA dizilerinin *invitro* koşullarda çoğaltılmasıdır. Mullis K.B. ve Saiki R.K. tarafından 1985 yılında tanımlanan polimeraz zincir tepkimesi tekniği; DNA'nın kısa parçalarını seçici bir şekilde çoğaltıp, tiplemeye kullanılacak DNA örneğinin miktarını arttırmaktadır. Bu yöntemle çok küçük miktarlardaki materyallerden bile DNA analizi çalışmaları yapılabilmektedir (Akar N. 1999 ve Dönbak L. 2002,).

PCR tekniği bir çeşit *invitro* klonlamadır ve hücre içinde gerçekleşen doğal DNA replikasyonu bir tüp içinde gerçekleştirilir. Bu teknik bir dizi DNA'nın kendini eşleme döngüsünü içerir. DNA polimeraz enzimi kullanılarak hedeflenen dizinin milyonlarca kopyası yapılır. Bu tekniğin en önemli avantajı oldukça az miktardaki biyolojik örneğin DNA amplifikasyonunun başlaması için yeterli olmasıdır (Mullis K.B.1994, Yükseloğlu E.H. 1996, Weir B.S. 1996, Carracedo A. 1999, Kephart D. 1999, Yılmaz E. 2006).

Bu yöntemin polimeraz zincir reaksiyonu olarak adlandırılmasının sebebi, döngünün anahtar elemanlarından biri olan DNA polimerazdan türetilmesidir. DNA polimeraz, *invitro* enzimatik replikasyon ile DNA'nın bir parçasını çoğaltmak için kullanılır. Önceleri PCR işlemi *E. coli* bakterisinden elde edilen DNA polimeraz kullanılarak yapıyordu. Ancak bu polimeraz enzimi çok yüksek sıcaklıkta aktif değildi. Bu nedenle her bir döngüden sonra ortama yeni enzim eklenmesi gerekiyordu. Bu sorun 1969 yılında Thomas Brock tarafından bulunan, ekstrem termofil (80-115 C° deki sıcak su kaynaklarında yaşayabilen) olarak adlandırılan ve bu sıcaklıkta bile aktif olan *Thermus aquaticus* adlı bakterinin kullanılmasıyla çözüldü. Kısaca Taq olarak adlandırılan bu bakteriden elde edilen DNA polimeraz, PCR'ın ısı döngülerinde hiçbir zarara uğramadan görevini yerine getirebilmektedir. Bu nedenle Taq DNA polimeraz enzimi için hızlı ve verimli saflaştırma teknikleri geliştirilmiş olup, günümüzde Taq DNA polimeraz genini taşıyan yüksek verimli plazmid içeren *E. coli* suşları kullanılmaktadır (Graul A. 1989, Sambrook J. ve ark 1989, Yükseloğlu E.H. 1996, Frankhauser D.B. 2003, Saferstein R. 2004).

PCR reaksiyonunda ilk adımda çoğaltılacak olan çift zincirli DNA, 90–95°C de yaklaşık 5 dakika ısıtılmak suretiyle denatüre edilir ve tek zincirli hale getirilir. İkinci adımda, sıcaklık 50–70°C arasında bir değere düşürülerek (bağlanma sıcaklığı) primerlerin tek zincirli DNA'

ya bağlanması sağlanır. 18–25 nükleotid uzunluğunda olan yapay oligonükleotidlerden oluşan bu primerler; çoğaltılacak DNA' nın sınırlandırılması için başlangıç noktası ve bitiş noktası olarak görev yaparlar. Üçüncü aşama olan DNA sentezi aşaması ise 70–75°C sıcaklıkları arasında gerçekleşir. DNA polimeraz enzimi, nükleotidleri 5'ucundan 3'ucuna doğru ekleyerek, primelerin uzamasını sağlar ve hedef DNA 'nın iki zincirli kopyasını oluşturur (Klug 2000).

2.1.4. Kapiler Elektroferez

Farklı boyutlardaki DNA parçalarının saptanmasında elektroforetik yöntemler kullanılmaktadır. Kapiler elektroferez teknolojisi son on beş yılda protein ve nükleik asitleri de kapsayan çok çeşitli moleküllerin ayırımında etkin ve ekonomik bir yöntem olarak geniş bir kullanıcı kitlesine sahip olmuştur (Buttler J.M, 2012).

Kapiler elektroferez (KE) elektroforetik hareket kabiliyeti, faz ayrımı, moleküler boyuttaki farklılıklara ya da bunların birkaçına bağlı olarak elektrokinetik ayırım yapan bir tekniktir. Bu elektrokinetik ayırım iki ucu açık, dış yüzeyi silika ile kaplanmış, yaklaşık 25-75µm iç çaplı 15-100 cm uzunluğunda, silindirik kapillerde yapılır. Kapiler elektrotları ve tamponu içeren iki cam hazne arasına yerleştirilmiş olup, kapillerler jel ile dolduktan sonra çok az miktardaki örnek kapillerin bir ucuna elektrokinetik ve hidrodinamik teknikle yüklenir. Ayırım yüksek voltaj (yaklaşık 5-30 kV,1-150uA) uygulayarak yaklaşık 200-500 V/cm doğru akım altında sağlanır. Bu elektrik akımı sadece molekülleri elektrikle yüklemeyi (elektroferez) aynı zamanda tüm solüsyonun hareketini sağlar (elektro-ozmoz). Basınçlı akımlarda gözlediğimiz parabol şeklindeki akım eğrisinin yerine elektro-ozmoz da düz akım eğrisi oluşur. Kapilerdeki çözünür maddenin dağılımı temel olarak difüzyon ile kapiler duvarı örnek etkileşimi, ısı ve iletkenlikteki değişime bağlı olarak elektroforetik dağılıma dayanır. Kapiler duvarı- örnek etkileşimi, duvar iç yüzeyinin tampona eklenen dinamik maddeler ile kaplanması ile en aza indirilir. Örnekler kapillerin anot ucuna yakın yerleştirilen sensörler ile kapiller üzerinden saptanırlar. Yöntemin en önemli avantajları çok az miktarda örnek gerektirmesi (birkaç nL), ileri derecede hassas olması (LIF- laser induced fluorescence teknolojisi ile birleştiğinde attomol seviyeleri), hızlı ayırım gücü, on-line pik olarak görüntülenebilmesi, otomatizasyon ve ek cihazlarla uyum olarak sıralanabilir (Aşçıoğlu ve ark 2002; Heeren ve Thormann 1997; Landers J.P. 1997) .

Bu yöntemle biyoloji, tarım, ziraat, genetik, adli tıp araştırmaları gibi hemen hemen her alanda araştırmalar yapılabilir. Son yıllarda analitik kimyada, özellikle protein ve DNA ayırma yöntemleri geliştirilmiştir. 1960'lı yıllardan bu yana kromatografi ve bununla ilgili yöntemlerdeki gelişmeler yeni bilgilerin hızla birikimiyle birlikte ileri bir düzeye ulaşmıştır.

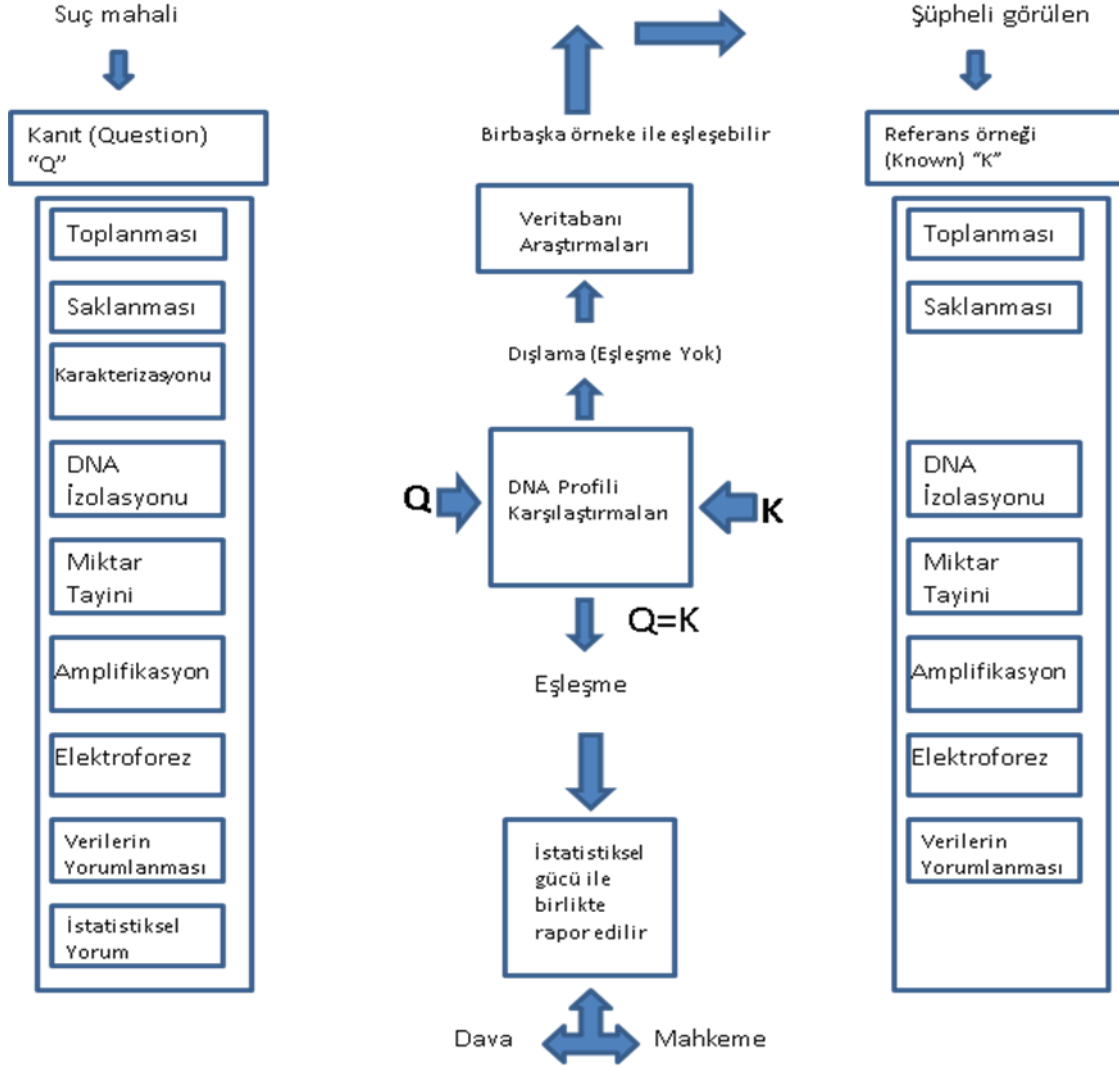
Kromatografik yöntemler ile yapılan ayırma ve analizler oldukça doğru ve büyük olasılıkla kesin ölçümler sağlamaktadır. Ancak kapiler elektroforezin (KE) gündeme gelmesi ve özellikle kapiler elektroforezde otomasyonun uygulamaya konulması ile diğer yöntemlerde ortaya çıkan sorunların kapiler elektroforez uygulamaları sırasında ortadan kalktığı görülmüştür (Li, 1993).

İlke olarak kapiler elektroforezin çok basit bir enstrümantasyona gereksinim vardır. En basit olarak ± 30.000 voltuk bir güç kaynağı, bir kapiller tüp, iki elektrod tampon haznesi elektrodlar ve bir dedektörden ibarettir. Kapiler tüpte elektroforez geliştikten sonra iyonik türlerin ve makromoleküllerin hızlı, etkin bir şekilde ayırımları ve analizleri için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Bunların içinde en sık kullanılanlar; kapiller zon elektroforezi, kapiller elektrokinetik kromatografi, kapiller jel elektroforezi ve kapiller izoelektrik odaklamadır (Li, 1993).

Yüksek hassasiyetinden dolayı eski yöntemle zayıf dahi olsa sinyal vermeyen örnekler yeni yöntemde ölçülebilir pikler oluşturmakta ve pikler değerlendirmeye alınmaktadır. Tipleme sonrası sonuçlanan piklerin bilgisayar ortamında muhafaza edilerek istenildiğinde yeniden değerlendirmeye imkan vermesiyle geriye yönelik olarak pik sonuçlarının değerlendirilebilirliği çok önemli bir olanaktır (Aşçıoğlu ve ark, 2002).

Kapiler elektroforez günümüzde DNA ve RNA temelli nükleik asit uygulamalarında STR temelli insan kimliklendirme en sık ve yaygın kullanılan kapiler elektroforez yöntemlerinden birisidir. Adli bilimlerde kapiler elektroforez uygulamaları, kanıtların hukuksal açıdan analizi için büyük avantaj sağlar (Tatlıcı ve Baroğlu, 2006 ; Wooley ve Mathies, 1994).

2.2. İNSAN KALINTILARINDAN KİMLİKLENDİRME AMAÇLI ÖRNEK TOPLANMASI



Şekil 2.1. Adli olgularda DNA testi basamakları (Buttler J.M, 2012)

Şekil 2.1. de görüldüğü gibi DNA analizi yapılabilmesi için her zaman sorgulanan örnek "Q" ve referans örnek "K" olmak üzere iki örneğin karşılaştırılması gerekir. K örneği bilinen bir kaynaktan alındığı için, kaynağını saptama (kan lekesi veya tükürük lekesi) veya rastgele eşleşme olasılığını hesaplama gereksinimi yoktur (Buttler J.M. 2012).

Kimliği belirsiz kalıntıların olduğu olaylar için DNA analizi tercih edilen yöntem ise kalıntıların bozulmuşluk durumu hangi örneğin kullanılacağına karar verecektir. Bu gibi durumlara daha çok kitlesel ölüm olaylarında rastlandığı görülmektedir. Minimum

bozulmuşluk gösteren kalıntılarda otopside alınan bir kan örneği genellikle yeterlidir. Maksimum geri kazanım için FTA kağıdı (kan ve tükürük gibi biyolojik örnekleri oda sıcaklığında saklamak için tasarlanmış kimyasal bir kart) tavsiye edilmektedir. Alternatif olarak (ya da bir kan örneğine ek olarak) eğer çürümüş değilse DNA kaynağı olarak derin bir kas dokusu örneği önerilir. Eğer çürüme gerçekleşmiş ise DNA'nın degradasyonu kesin olacağından vücut sıvıları ve yumuşak dokular kullanmaktan kaçınılmaktadır. Bu tür durumlarda sert yapılarından dolayı içerisindeki DNA'ya yüksek koruma sağlayan sert dokular tercih edilmektedir. Birçok protokol, bir kortikal kemik (örnek: femur) veya bir dişi (örnek: köpek dişi) delil olarak toplamayı önerir. Kemik örneği seçimi önemli bir husustur ancak kısmi kalıntıların olduğu durumlarda tercih edilen bir numune türü olmayabilir. Buna rağmen DNA tiplene başarı oranları test edilen iskelet elemanına bağlı olarak değişiklik gösterse de tüm kemikler başarılı sonuçlar vermişlerdir (Milos A. ve ark 2007, Mundorff A.Z. ve ark 2009).

Dişler de potansiyel iyi bir DNA kaynağı olarak bilinmektedir ve kemiğe benzer yapıları DNA'yı yıllarca korumaya yardımcı olur. Dişlerin köklerinin sayısı ve pulpa boşluğunun boyutunun kazanılabilir DNA miktarını etkilediği düşünülmektedir. Köpek dişleri (canines) boyutu ve çıkarma kolaylığı (tek köke sahip olmasına bağlı) arasındaki denge nedeniyle tercih edilir. Kemikler gibi diş seçimi de önemlidir fakat kısmi kalıntıların olduğu durumlarda seçim sınırlanabilir ve en elverişli örnek kullanılır. Yapılan çalışmalar, tedavi görmüş dişler de dahil olmak üzere tüm diş türlerinde (canine, incisor, premolar ve molar) DNA elde edilebildiğini ortaya koymaktadır (Sweet D. and Hildebrand D. 1998, Lubio R. and ark 2009).

Bir örnek üzerinde DNA testi uygulanmadan önce örneğin toplanması, örnekten DNA'nın izolasyonu ve karakterizasyonu için uygun bir formata koyulması gerekmektedir. Bu adımlar kullanılan DNA tiplene prosedürü ne olursa olsun başarılı bir sonuç elde etmek için çok önemlidir. Eğer örnekler soruşturmanın ilk aşamalarında düzgün toplanmazsa, analitik analiz veya verilerin yorumlanması aşamasında ne kadar yoğun çalışılırsa çalışılsın telafi edilemez. Bu nedenle bir suç mahalinde delil toplanırken çok dikkatli olmalı ve yasal olarak mahkemenin kabul ettiği anlamlı bir DNA profili elde etmek amacıyla delil teslim zincirinin işleyişinin düzgün olması gereklidir.

Cesetlerden toplanan örneklerin paketlenmesi ile ilgili malzeme seçimi toplanan örnek tipine bağlı olarak değişir. Islak numune her ne olursa olsun (yumuşak doku, kemik veya diş)

testten önce sızdırmaz bir kapta ve -20 C de saklanmalıdır. İskelet elemanları eğer tamamen kuruyorsa hava alabilir bir ambalaj (kağıt, kutu...) içerisinde oda sıcaklığında saklanabilir (Hildebrand D. 2011).

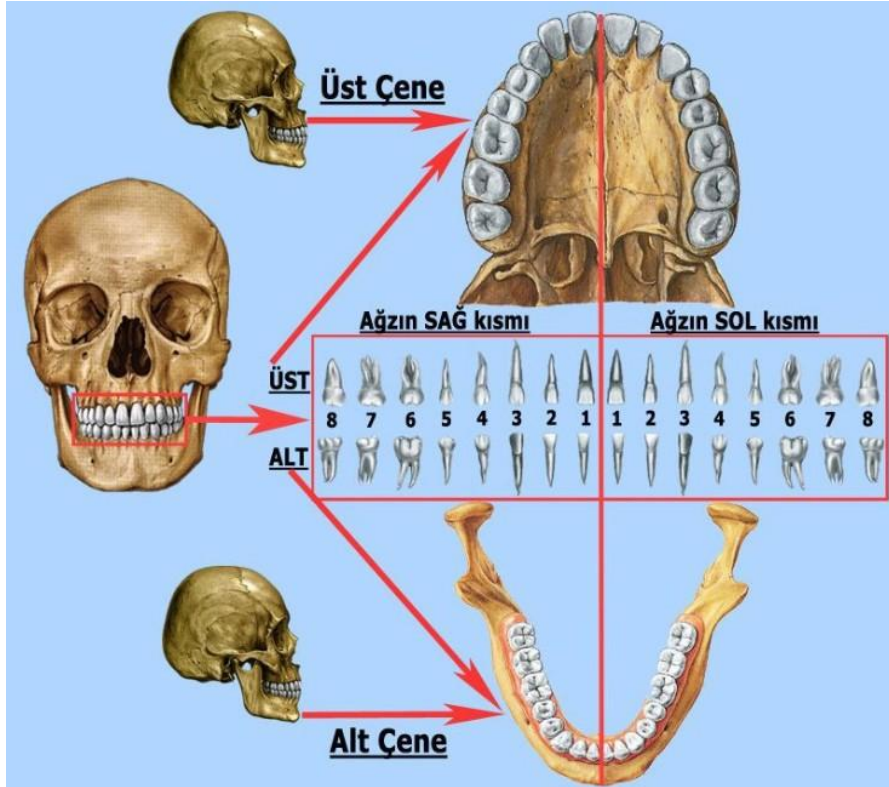
DNA analiz teknikleri, kanıtların özenle toplanması, korunup saklanması ve analizin yapılacağı adli laboratuara uygun şartlarda taşınması gibi koşullar sağlandığında, olay yerinden bulunan çıplak gözle görülemeyecek kadar küçük kanıtlarla, şüphelileri tutuklatacak kadar duyarlı hale gelmiştir (Buttler J.M. 2012).

2.3.DİŞİN YAPISI

Dışler şekil ve boyut olarak farklılık gösterebilir fakat benzer histolojik yapıları vardır. Yetişkin insanlarda ve çocuklarda bulunan dişlerin sayıları, isimleri ve şekilleri aşağıdaki tablolarda gösterilmiştir.

Tablo 2.2. İnsan çenesinde bulunan diş sayıları

Diş Tipi	Diş Sayısı	
	Üst Çene	Alt Çene
Süt Dişleri	10	10
Yetişkin Dişleri	16	16



Şekil 2.2. Dişlerin isimlendirilmesi ve numaralandırılması

(http://www.aysunigneli.com/agiz_dis_eti_dil_cene_anatomisi1.html)

İnsan dişleri dört morfolojik fonksiyonel formdan oluşmaktadır: Kesici dişler(incisors), köpek dişleri (canines), kesici öğütücü dişler (premolars-bicuspid) ve öğütücü dişler (molars). Kesici dişler ve köpek dişleri ön dişleri oluşturmaktadır (Fairgrieve, 2007)

Tablo 2.3. İnsan çenesinde bulunan dişlerin adları ve genel özellikleri
(http://www.aysunigneli.com/agiz_dis_eti_dil_cene_anatomisi1.html)

Temel Diş Şekilleri	Kesici dişler (incisors)	Köpek dişleri (canines)	Küçük azı dişleri (premolars)	Azı dişleri- Öğütücü dişler (molars)
Genel GörünüŖleri	Öndeki dört diş, tümü keskin kenarlı ve kare şekillidir. Alt ve üst olmak üzere 8 adettir. Şekil 2.3 te 1 ve 2 olarak gösterilen gruptur.	Koni biçimli alt ve üst olarak 4 adettir. Şekil 2.3 te 3 numara ile gösterilmiştir.	Öğütücü dişlerle köpek dişleri arasında her bir tarafta dörder tane olmak üzere toplamda 8 adet bulunan kesici dişlerdir. Şekil 2.3. te 4 ve 5 numaralı dişler olarak gösterilmiştir.	Çenedeki en büyük dişler olup, kare şekillidir. Alt ve üst olmak üzere 12 adettir. Şekil 2.3. te 6,7 ve 8 numaralı dişler olarak gösterilmektedir.

Dişin Kısımlarını Açıklamak için Kullanılan Terimler

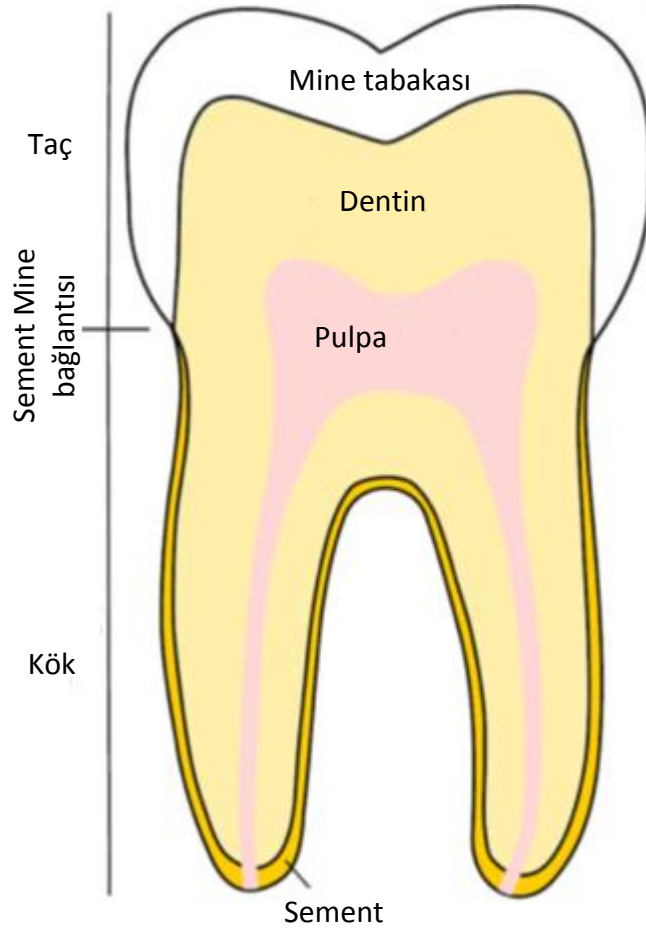
Dişin yapısını tam olarak açıklayabilmek amacıyla diş kısımları için kullanılan terimler aşağıda belirtilmiştir (Bowers, 2012).

Taç (Crown)	Çene içerisinde dişin görünen kısmı
Kök (Root)	Dişin normalde çene kemiğine gömülü olarak bulunan kısmı
Tepecik (Cusp)	Diş üzerindeki ısırma kenarlarıdır. Alt ve üst çenedeki ön dişlerde yoktur. Arka dişler (bicuspid ve molar) düz yapılarının üzerinde diken şeklinde ısırma kenarlarına sahiptir.
Mine (enamel)	Dişlerin taç kısmını örten insan vücudundaki en sert doku.
Sement (cementum)	Dişlerin kök kısmını çevreleyen sert doku
Dentin (dentin)	En dışta bulunan mine tabakasının altında bulunan nispeten daha yumuşak doku.
CEJ	Sement- Mine bağlantısı (Cementum- Enamel Junction). Dişin boyun kısmında taç ve kökü birbirinden ayıran yapı

Dişlerin kök kısmı çene kemiği üzerinde bulunan dişe ait yuva içerisinde bulunur. Mineral bir bağ doku olan dentin dişin en önemli yapısal eksenini oluşturur. Dentinin dışarıda kalan taç kısmı ektodermik orijinli sert bir doku olan mine tabakası ile örtülüdür. Diş, yapısındaki ana birleşen olan ve kalsiyum hidroksi aptitten oluşan diş minesi sayesinde vücudun en sert dokusudur. Dişin bu korunaklı yapısı nem, yüksek sıcaklık, bakteri ve mantar enfeksiyonları gibi kötü koşullarda DNA degradasyonuna karşı direnç sağlar (Alakoç ve Aka 2009). Kök dentini ise başka bir kalsifiye bağ doku tipi olan sement tabakası ile kaplıdır. Sement tabakası kendisine ait nükleer genom barındıran ve cementosit hücrelerinden oluşan mineralize bir dokudur (Malaver ve Yunis 2003).

Dişin Pulpa kısmı onu çarpma, travma ve ısı gibi zararlı etkilerden koruyan sert bir doku kalıbı içine gömülmüştür. Pulpa, pulpa kanalını dolduran gevşek bağ dokudan oluşmuştur. Dışında dentin tabakası ile örtülüdür. Pulpa dentin tabakasını yaşamsal devamlılığını sağlarken dentin de pulpayı çevreleyerek korur. Aynı embriyolojik orjinli olan dentin ve pulpa yapısal, embriyolojik ve işlevsel birim olarak form alır (Veeraraghavan ve ark 2010).

Dişler, çene kemiği ile kaynaşmamıştır. Yani dişler çene kemiğinin birer kemik uzantısı değildirler. Her biri çene kemiğinden ayrı birer organdırlar. Ancak neredeyse kaynaşmış kadar sağlam bir şekilde çene kemiği ile eklem yapmışlardır. Dento-alveolar eklem denilen bu eklem cinsi nonsynovial (içinde eklem sıvısı olmayan), synarthrosal (hareketsiz tipte) "Gomphosis tipi" eklemlerdir. Temel olarak kafatası (cranium) kemiklerini birbirine bağlayan sutura tipi eklemlerle aynı grupta incelenen ve en dirençli birleşme sağlayan eklemlerden olan diş eklemine özgü gomphosis tip kenetlenmenin klinik önemi; doğal yollarla diş kaybını çok zor hale getirmektedir (http://www.aysunigneli.com/agiz_dis_eti_dil_cene_anatomisi1.html).



Şekil 2.3. Dişe ait dokusal kısımlarını (mine, dentin ve semet) ve dişin yapısal kısımlarını (kök ve taç kısmı) gösteren şekil (Adler ve ark 2011).

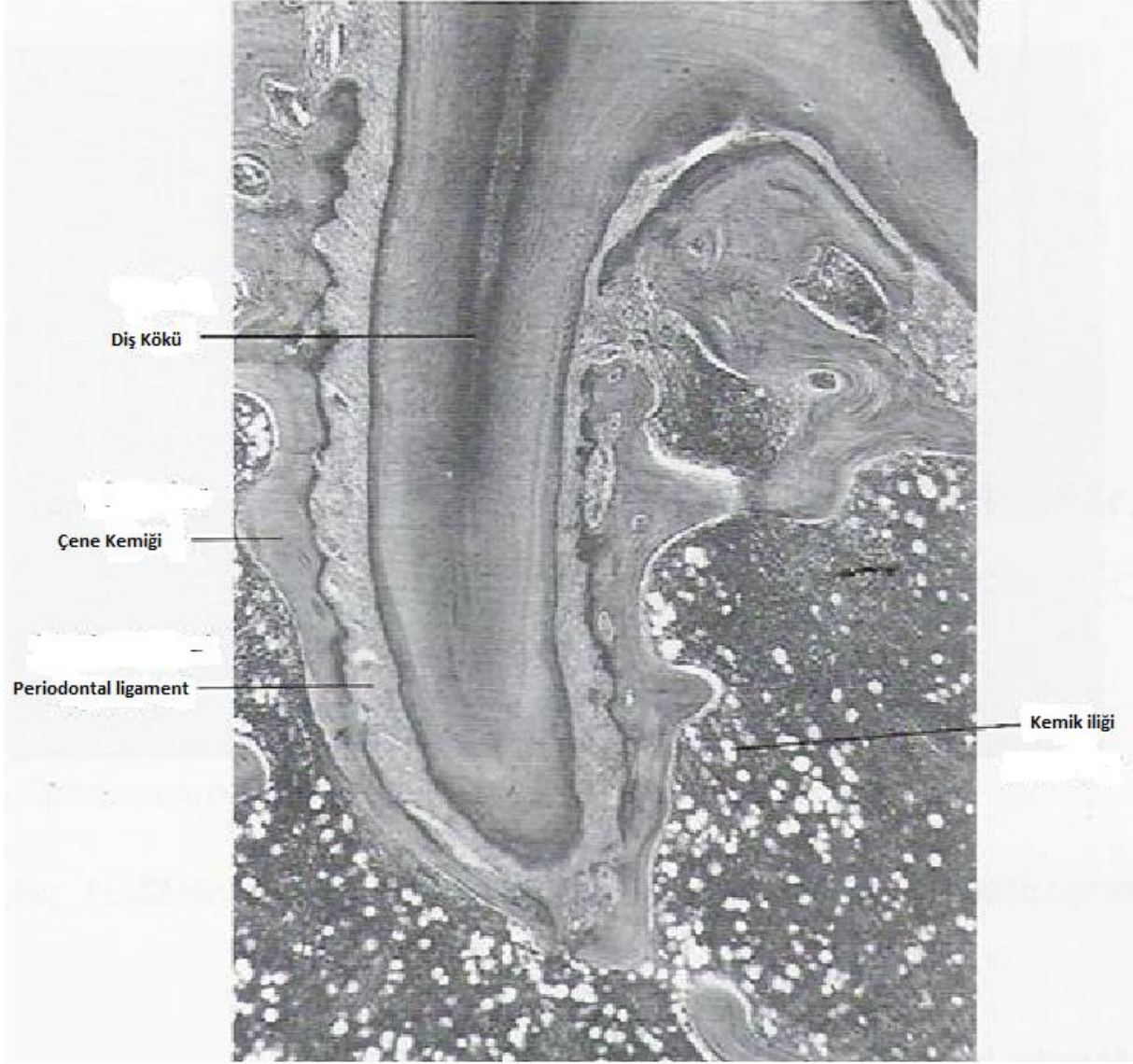
Kökler, peridontal ligament olarak bilinen ve onları çene kemiğine bağlayarak her bir kökün içine yerleştiği bir cep oluşturan doku ile çevrilidir. Periodontal ligament, peridontal boşluğu dolduran fibröz bir bağ dokudur. Sement ve çene kemiğinin periodontal yüzeyleri arasında yer alır. Periodontal ligament genişliği hepsinde aynı olmamakla birlikte 0,15-0,21 mm arasında değişmektedir. Süt dişlerindeki periodontal ligament sürekli dişlerdeki orana daha geniştir. Periodontal ligament bazı hücre tipleri içerir. Bunlar:

Sentezlenen hücreler: kemik oluşturan, kollajen ve kemik matriksinin zemin maddesi tarafından sentezlenen osteoblastlar, periodontal ligamentin baskın olan hücre tipleri olan

Resorptive hücreler: osteoclast, fibroblast, cementoclasts,

Savunma hücreleri: makrofaj, lymfositler ve mast hücreleri.

(<http://dc250.4shared.com/doc/S3ILG3HV/preview.html>)

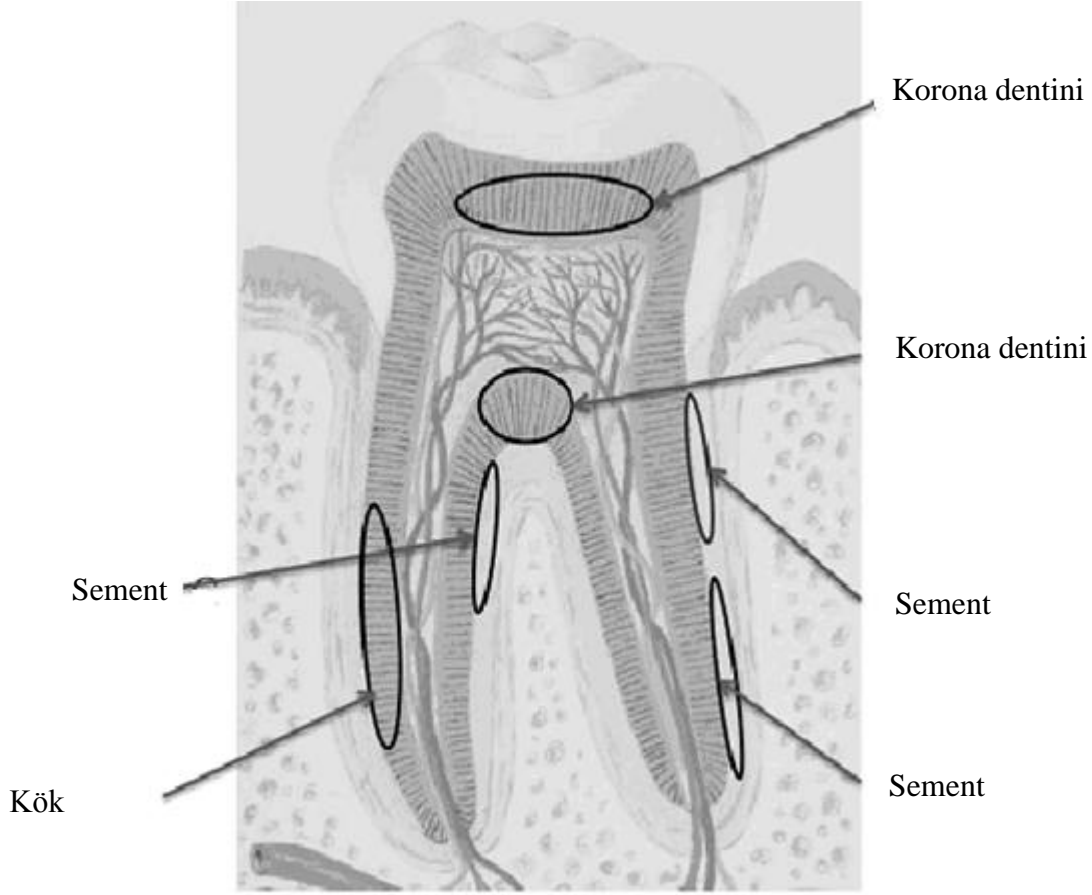


Şekil 2.4. Periodontal ligament ve çevre dokular.

DNA içeriği sadece dokularda değil, dişin farklı bölgelerine ait örneklerde de değişkenlik gösterir (Adler C.J ve ark 2011). Yapılan çalışmalar dişin mine, dentin ve kök kısmında yeterli miktarda DNA bulunduğunu, diş kökünün nükleer DNA, dentin tabakasının mtDNA açısından daha zengin olduğunu ortaya koymuştur. Sayıları mm^2 de 20000-45000 olan tübüllerdeki odontoblastik aktivasyon dentin tabakasını zengin mitokondri kaynağı olarak değerlendirilmesini sağlamaktadır (Tuğ A. ve Yaşar F. 2006).

Dişlerdeki başlıca nükleer DNA kaynakları odontoblastlar, pulpa dokusundaki diğer çekirdekli hücreler ve sementositlerdir. Diğer potansiyel DNA kaynakları ise onarıcı dentin tabakası içinde sıkışmış veya dentinal tubüllere geri çekilmiş odontoblastik hücreler, aksesuar

foremende bulunan kök dentinine veya pulpa odasına doğru uzanan kan damarlarındaki beyaz kan hücreleri ve cement tarafından yakalanan periodontal doku hücreleridir (Hill A.J. ve ark 2010).



Şekil 2.5. Dişe ait dokuların diş üzerindeki yerleşimleri (Higgins ve ark 2011)

Kısaca özetleyecek olursak dentin pulpa boşluğunu çevreleyen ve yüksek oranda mineralleşmiş odontoblast hücrelerinden oluşan ve dişin ana yapısal eksenini oluşturan mineralize bir dokudur (Adler C.J. ve ark 2011). Dişin taç kısmında bulunan dentin mine tabakası ile, kök kısmındaki dentin ise başka bir kalsifiye bağ doku olan sement ile örtülüdür (Şekil 2.5.). Sement içinde lakün boşluklarında kendisine ait nükleer genom barındıran ve sementosit hücrelerinden oluşan mineralize bir dokudur. Dişe ait bu iki kısım gerek dokusal yapısıyla ayrı ayrı gerekse de dişlerin canlıdaki yerleşim şekliyle adli kimliklendirmede kullanılabilir (Real ve ark 2011).

Sonuç olarak bütün diş ve diş kökleri sert mine ve dentin tabakasının evre koşullarına ve kontaminasyona karşı DNA için yüksek koruma sağlaması nedeniyle yaygın olarak DNA çalışmalarında örneğ olarak kullanılmaktadır (Bowers 2011).

2.4. DIŞ ve DİŞE AİT DOKULARIN ADLİ BİLİMLERDE KULLANIMI

Yangın, alev, yüksek ısı ve patlama gibi bazı dış faktörler, vücut kalıntılarında bilgi almayı sınırlandırabilir veya kimliklendirme sürecini kesintiye uğratabilir. Böyle durumlarda benzersiz karakteristiklere sahip olan diş, fiziksel ve kimyasal etkilere karşı yüksek derecede direnç göstermesi sayesinde kimliklendirmede önemli rol oynar.

Adli diş hekimliği, zorlu kriminal vakaların çözülmesinde ve kitlesel felaketlerde şahısların kimliklendirilmesinde son derece katkıda bulunan adli bilimlerin önemli bir alt dalıdır.

Bazı durumlarda bir kişinin tam olarak kimliklendirilmesi, şahısların vücutları kömürleşmiş veya tanınamayacak kadar aşırı parçalanmış olduğundan oldukça zordur. Diş, doğal ve insanların neden olduğu felaketlerde aşırı yüksek sıcaklıklara dayanıklılığı ve insanların kimliklendirilmesinde değerli bir ipucu sağlaması nedeniyle her zaman bir anahtar rol oynamıştır (Manjunath ve ark 2011, Katırcı N. 2013).

Dişlerin anatomik ve morfolojik özelliklerinin ölüm sonrasında da değişmemesi, diş durumunun çabuk tespit edilebilmesi ve elde edilen verilerin hızlı karşılaştırılması nedeniyle kimliklendirme sonucuna çabuk ve güvenli olarak ulaşılabilir. Bu nedenle diş bulguları, hem kendi başlarına hem de başka kimliklendirme yöntemlerinin temeli olarak etkili bir kimliklendirme yöntemidir (Katırcı N. 2013).

Yangınlar, patlamalar, vücut bütünlüğü bozulmuş cesetler ve iskelet kalıntıları gibi çok az materyalin kaldığı durumlarda kimliklendirme ve adli araştırmalar için moleküler genetik teknikleri Adli Diş Hekimliğinde önemli bir konuma sahiptir (Silva ve ark 2011).

Dişler ayrıca cinsiyet, ırk ve bazen meslekle ilgili bilgiler verebilir (Zeyfeoğlu ve Hancı, 2001). Genel olarak postmortem muayene ile dental tedavinin varlığı ya da yokluğu ve kalitesi, kişinin sosyo-ekonomik durumu, yaşadığı yer hakkında bilgi sağlanabilmektedir (Pretty ve Sweet 2001).

Özellikle bazı durumlarda dişler sayesinde şahısların yaşı, soy geçmişi, cinsiyeti, mesleği, beslenme şekli, alışkanlıkları, dental ve sistemik hastalıkları hakkında ek bilgi sağlamak

mümkündür (Pretty ve Sweet 2001). Örneğin camcıda kesici diş kenarları baklava şeklindeyken, terzi ve ayakkabıcılarda iplik kesmekten dişlerin uçları dantela gibi aşınır. Kurşun, civa ile ilgilenen sanayi işçilerinin dişleri üzerinde grimtrak çizgilenme, sigara içenlerde ise dişlerin ağız boşluğuna bakan iç yüzeylerinde sarı-kahverengi renk değişikliği oluşur. Dişlerdeki erozyon varlığı alkol kullanımını ya da mide rahatsızlığını göstermektedir (Bilge, 2005, Görmez ve Yılmaz, 2014).

2.4.1.Felaket Kurbanlarının Kimliklendirilmesinde Dişlerin Önemi

Kitle felaketi, her yerde ve genellikle önceden uyarı olmadan gerçekleşebilen, çok sayıda ciddi yaralanma ve ölümlere yol açan beklenmeyen bir olaydır. Uluslar arası literatürde kabul gören tanımlamaya göre bir olayın felaket olarak tanımlanabilmesi için ani gelişen, yeri ve zamanı öngörülemeyen, çok sayıda insanın aynı anda öldüğü, sosyal- ekonomik- çevresel hasar veren ve etkileri uzun süren, yerel kaynakların kimlik tespit çalışmalarının çözümünde yetersiz kaldığı bir olay olması gerekmektedir. Bu olaylar deprem, sel veya kasırga gibi doğal olaylar, uçak ve tren kazaları, bina yangınları gibi doğal olmayan ve ülkelerarası terör nedeniyle önemli yerlerde doğrudan saldırılar, intihar saldırıları da dahil olmak üzere kalabalık alanları bombalama ve kimyasal ve biyolojik silahlar gibi kasıtlı olaylar olabilir (Higgins ve ark 2011, Altaş V. 2013).

Dünyada son zamanlarda, terör olayları, bombalama, depremler, kasırgalar, tsunami, demiryolu kazaları, hava kazaları ve diğer ulaşım felaketleri yaşanmıştır. Tüm felaketlerde aileler yakınlarının en kısa sürede ve doğru bir biçimde kimliklendirilmesini ister. Bu da farklı disiplinler arası detaylı ve güvenilir bir çalışmayı gerektirir. Felaket Kurbanlarını Kimliklendirme (DVI, Disaster Victim Identification) ekiplerinde kolluk güçlerinin yanı sıra olayın türüne göre farklı bilim alanlarından uzmanlar görev yapmaktadırlar. Post mortem incelemeleri yapan ekiplerin değişmeyen elemanları adli tıp uzmanları, adli diş hekimleri ve adli DNA uzmanlarıdır (Tuğ ve Yaşar 2006).

Felaket kurbanlarının kimliklendirmek için DNA analizi, felaket ölçeği ve yapısı ne olursa olsun, DVI'ın ayrılmaz bir parçasıdır. Bir DNA profili oluşturmak için referans örnekleri ile karşılaştırmak amacıyla ölen kimsenin vücut veya vücut parçalarından örnek toplamak gerekmektedir. DNA analizi, kurbanların akraba (akrabalarıyla ailesel eşleştirme) veya

doğrudan (öz kaynak örnek) DNA profillerinin eşleştirilmesi yoluyla tanımlanmasına yardımcı olmak için gerçekleştirilir. DNA eşleştirmeleri mümkünse birden fazla kişiden olmak üzere birinci derece akraba profilleriyle, ölen kişinin kendine ait örnekler (kan kartları, kemik iliği donör programı.. gibi) veya saç fırçası, tarak, ruj gibi şahsı eşyalarından alınan örneklerle gerçekleştirilebilir. Birçok toplumda bir hatıra olarak saklanan dökülmüş süt dişleri DVI bağlamında alternatif bir antemortem özkaynak olarak doğrudan eşleştirmede kullanılabilir (Xavier ve ark 2011, Veeraraghavan ve ark.2010).

Postmortem ve Antemortem Diş Kayıtlarının Karşılaştırılması

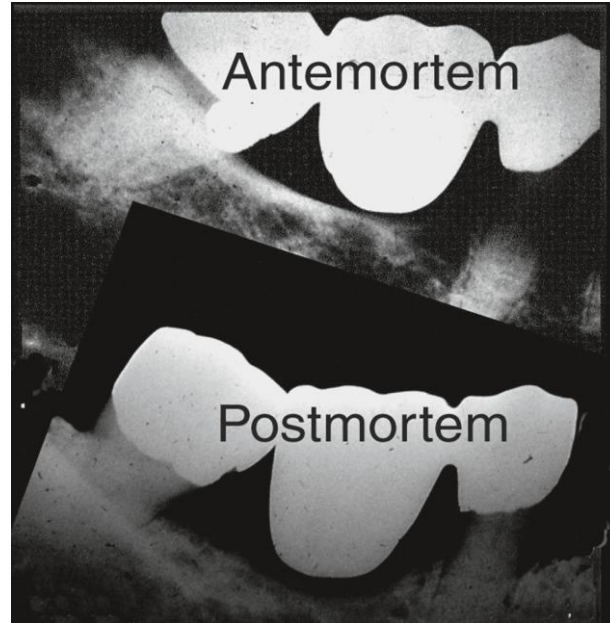
Afet kurbanlarının kimliklendirilmesi prosesindeki başarı, yeterli otopsi verilerinin kayıp kişinin ante- mortem kayıtları ile anlamlı bir karşılaştırma imkanı ile geri kazanımına dayanır. Uzun süre yüksek sıcaklıklara maruz kalmış insan bedenleri kırılğan iskelet elemanları içerir. Dişe ait yapılar vücudun en dayanıklı yapılarıdır ve bu yüksek sıcaklıklarda uzun süre hayatta kalır. Ancak olay yerinde ve morga taşınması sırasında iskelet ve diş elemanlarının bozulmasını engellemek amacıyla kırılğan kalıntıların korunması gerekmektedir. Herhangi bir bozulma post-mortem delil elde etmede ve soruşturma mutabakatı (resmi tanımlama) fazı sırasında sorunlara yol açacaktır (Hill ve ark. 2010).

Tipik bir felaket morgunda fotoğraflama, kişisel eşyalar, parmak izi, diş, antropoloji, patoloji ve sonraki laboratuvar analizleri için DNA örnekleme istasyonları bulunur. Diş örnekleri morgun dişlerle ilgili olan alanına ulaştığında ilk önce fotoğraflanır. Tüm çenenin diş grafisi çekilir. Otomatik bir işlemcinin varlığı oldukça yararlıdır. Kuru filmler konumlandırıldıktan sonra kalite, uygun açılma açısından değerlendirilir. İyi kalitede filmler hedeflenen kanıt için son derece önemlidir. Daha sonra kişiye postmortem ağız muayenesi yapılırken diğer bir kişi bulguları onaylamak üzere takip eder ve üçüncü kişi de bulguları uygun bir diş çizelgesi üzerine kaydeder. Bu bilgiler ekip üyeleri tarafından daha sonra karşılaştırılmak ve çapraz referans bilgi olarak kullanılmak üzere bir bilgisayar programına kaydedilir. Çift kontrol kesin doğru bilgi için hayati önem taşımaktadır. Bu çizelge kimliği belirsiz kişi için bütün ölüm öncesi (antemortem) kayıtlarla bir karşılaştırma aracı olarak kullanılacaktır (Bowers C.M. 2011).

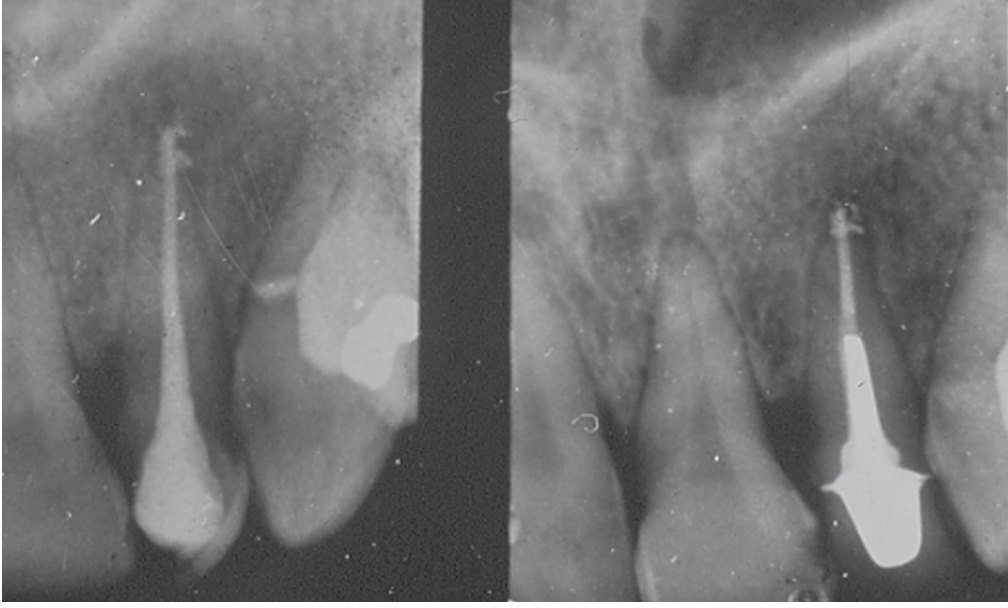
Antemortem kayıtları derleme olay yerindeki kalıntıların değerlendirilmesi için çok önemlidir. Tüm orijinal diş kayıtlarına ulaşmak amacıyla daha önce tedavisini yapan diş

hekiminin adını almak üzere aile bireyleriyle bağlantıya geçilir. Bu tür kayıtlar, anlatılar, grafikler, grafiler, fotoğraflar, laboratuvar reçeteleri, sevk notları ve tedavi sürecinde yapılmış tüm işlemleri gösterir. Antemortem ekibi okunması zor yazıları çözümlmek, kodları ve kısaltmaları anlamlı hale getirmek, yabancı dillerden çeviri yapmak ve alınmış notları yorumlamak gibi görevler üstlenir. Gerekirse açıklama ve onay için esas diş hekimine başvurulur. Kimliği belirsiz kişilerin sayısı çok olduğu durumlarda bu adım oldukça itina isteyen bir hal alabilir (Bowers C.M. 2011).

Bir bireyin ölüm öncesi tüm kayıtlarının incelenmesinin ardından bütün bulgular tek bir belge formuna kaydedilir. Bu form otopsi ekibi tarafından kullanılan formun aynısıdır ve süreçteki karşılaştırma işlemini kolaylaştırır. Örneğin 3 tane kök kanal tedavili dişe sahip olduğu biliniyorsa bu özellik özellikle aranabilir. Bu kombinasyon mevcut değilse eleme yapılır. Eğer kalıntılar, çeneyi içermiyor veya travmaya bağlı olarak o üç diş kaybolmuş durumdaysa karşılaştırma bu noktada geçerli olmayacaktır. Karşılaştırma başka özellikler için yapılır (Bowers C.M. 2011).



Şekil 2.6. Pozitif kimliklendirmeye bir örnek. Köprü işlemi uygulanmış, üçlü diş grafisi. Antemortem ve postmortem grafilerdeki yapılar birbirine uyum göstermiştir (Bowers C.M. 2011).



Şekil 2.7. Yan yana iki dental grafi seti (Bowers C.M. 2011)

Şekil 2.7. de yan yana konulmuş iki dental grafi seti görülmektedir. Sol taraftaki antemortem ve sağ taraftaki postmortem görüntülerdir. Kanal dolgusunun şekilleri ve diğer yapılar pozitif kimliklendirme için etkili bir bilgi sağlamaktadır.

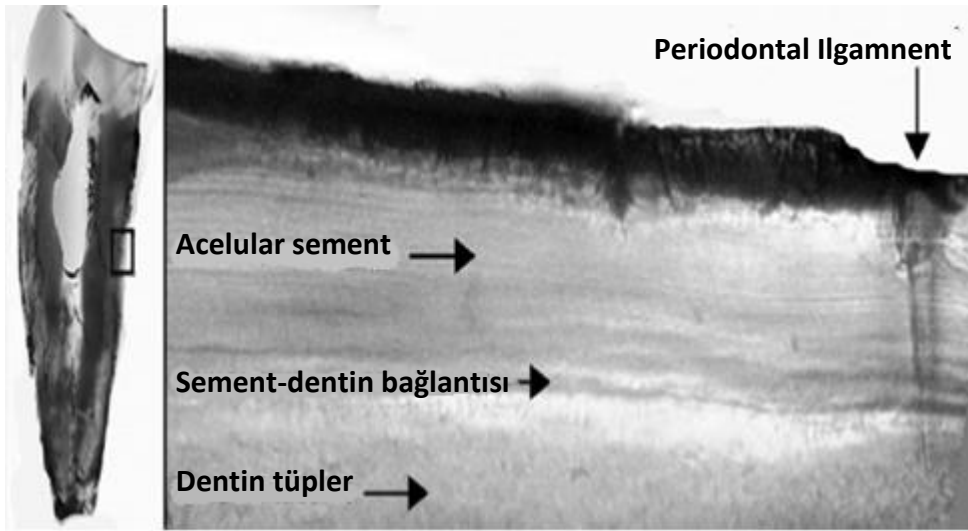
2.4.2. Diş ile Yaş Tahmini

Adli bilimlerde kesin bir yaş tahmini bireysel tanımlama için önemli bir gerekliliktir. Makroskobik ve mikroskobik yaş tayini yöntemleri detaylıca bir bütünlük içinde çalışır (Garmus 1996).

Dişler omurgalılar için sık sık kullanılan en sağlam ve çok bilgilendirici bir sistemdir ve birçok yaş tayini yöntemi dişleri temel alır. Renk ve flüoresanlık yaş ile ilişkili olsa da dişin renginin bozulma eğilimi biyoarkeolojide kullanımını sınırlandırır. 1950'lerden bu yana dişlerin ince kesitleri, boyuna kesitlerdeki altı özellik açısından değerlendirilir: taç aşınması, sekonder dentin, periodontal değişiklik, kök sementinin apozisyonu, kök erimesi ve kök saydamlığı. Kılıan'a göre (1975) bu yöntem sadece 3-18 yaşlarda düşük hataya sahip olmasına rağmen diğer uzmanlar toprak koşullarına bağlı olarak daha büyük şüpheyle yaklaşmışlardır (Kılıan 1975, Rösing ve Kvaal 1998).

Dışlerdeki tabaka yapıları yıllardır bilinmekteydi ve çeşitli memelilerde incelenmişti. Bu üç boyutlu koni benzeri tabakalar halkalar olarak adlandırılmaktaydı. Çünkü enine kesit alındığında eş merkezli halkalar olarak görünmekteydiler. Bu halkaların görünümünün kesin mekanizması hala tartışmalı olsa da ontogenetik büyümeyle ilişkili olduğu düşünülmüş ve böylece “artışlı hatlar” terimi kullanılmıştır (Jankauskas ve ark 2009).

Sekonder dentin tabakası pulpa boşluğunda birikirken sınırlı alan tarafından kısıtlanır. Böylece kök dentin tabakası dış yüzeyinde biriken katmanlar olarak daha ilgi çekici görünür. Artışlı hatların sayısı için herhangi bir kısıtlama yoktur. Hemen hemen tamamen kalsiyum tuzlarından oluşan yıllık birikim çizgileri sementositlerden zengin geniş ve açık renkli bir “yaz” tabakası ve dar ve koyu renkli bir “kış” tabakasından oluşur (Şekil 2.8.) (Grue & Jensen 1979; Stallibrass 1982; Gordon 1993).



Şekil 2.8. Sementum üzerindeki yıllık birikim çizgileri (Schug 2012).

Hayvanlar üzerindeki üzerindeki araştırmalar bu düzenli birikimlerin hem çevre (iklimsel değişiklikler, gıda kalite ve miktarı) hem de üreme döngüsü ve beslenme alışkanlıkları gibi metabolik dalgalanmalardan etkilendiğini ortaya koymuştur. Bu nedenle halkalar özellikle beslenme ve aktivitedeki mevsimler farklılıklar yaşayan hayvanlar için kullanılmıştır. İnsan yaş tahmininde de mineralize ve demineralize, lekeli ve lekesiz kısımların her ikisi de kullanılabilir. Araştırmacıların büyük bir çoğunluğu artışlı hatların sayısı ile kronolojik yaş arasında yüksek bir korelasyon bulmuştur (Rösing ve Kvaal 1998, Jankauskas ve ark 2009).

2.4.3. Diş İsrık İzi

İnsan veya hayvan dişlerinin etki ettikleri yüzeylerde meydana getirdikleri değişim, bozulma ve yeni yapılanma ısırık izi olarak tanımlanır. Kişilerin belirli uzuvlarının (kol, bacak, gluteal bölge, kulak kepçesi vb.) veya yiyeceklerin ısırılarak dişlerin çukurları ve bazen de tamamen ön dişlerin izleri bulunabilir. Adli bilimlerde ısırık izi genellikle insan derisi üzerinde ise önem kazanır. İsrık izlerinin tanımlanması, incelenmesi ve değerlendirilmesi sıklıkla, cinsel saldırılarda, çocuk istismarı olgularında ve kişisel savunma durumlarında görülür (Koçak ve Aktaş, 2009). İsrık izlerinin analiziyle zanlı bulunabildiği gibi saldırının amacı da tespit edilebilir (Yaşar F. ve ark 2001). Örneğin cinsel saldırı sırasında oluşan ısırık izleri, çoğunlukla sadistik özellikler taşır. Tipik olarak dokuya yavaş ve kasıtlı bir şekilde uygulanan emme ile oluşturulurlar. Meydana gelen yaranın merkezi ve/veya periferik kısmında emme izleri ve ön dişlerin kesici açları ile oluşan lineer ışınsal sıyrıklar bulunur (Zeybek İ.S. 2011).

Rawson insan dentisyonunun kişiselliğini matematiksel olarak gösteren bir çalışma yapmış ve ısırık izinin ister ciltte, ister cansız bir objede olsun, kendi eşsizliğini mutlak göstereceğini belirtmiştir (Rawson ve ark 1979).

Başka bir çalışmada bir grup özdeş ikizlerden elde edilen ısırık izleri değerlendirilmiştir. Her kişinin dentisyonunun bir kopyası alınıp, mum, silikon, alçı ve diğer maddeler üzerinde izler oluşturulup, bunların derinliği, boyutu, açları ölçülmüştür. Bu değerler bilgisayar ortamında analiz edilip, her ikiz çiftinin ısırık izleri arasında anlamlı farklar olduğu tespit edilmiş ve özdeş ikizlerin bile dişsel olarak özdeş olmadığı saptanmıştır (Afşin, 2001).

Bir ısırık izi dinamiğinde üst çene kafatasına bağlı sabit, alt çene ise hareketlidir. Üst çene tutmak için, alt çene ise kesmek için kullanılır. Bu durum alt arktaki dişlerin ciltte üst arktakilerden daha net iz bırakmalarını sağlar. Bu da ısırık izi araştırmalarındaki en yaygın bulgulardan biridir (Afşin, 2001).

Vakanın özelliklerine bağlı olarak ısırık izi örneği gıda maddesinden, başka maddelerden, kurbanın ya da katilin üzerinden elde edilebilir. İsrık izi incelenirken ilk önce örneğin gerçekten ısırma sonucu olup olmadığı belirlenmelidir. Örneğin aletle, giysi parçasıyla oluşmadığının ve herhangi bir kutanöz lezyon, enfeksiyon ya da yara olmadığının ve dişlere bağlı olarak gerçekleştiğinin kanıtlanması gerekir. Daha sonraki basamak ısırık izinin

incelenmesi ve belgelendirilmesidir. Bu aşamada birçok yöntem kullanılabilmekte ve her vakada koşullara, inceleyen kişinin tercihinine ve yeteneğine bağlı olarak değişmektedir. Günümüzde ısırık izlerini klasik toplama ve belgeleme yöntemi DNA analizi için sürüntü alınmasıyla birlikte izlerin renkli, siyah beyaz, ultraviyole ve kızılötesi fotoğraflanmasıdır. Çeşitli maddelerle dokunun ölçüsünün alındığı diğer yöntemde ise ısırık izi sınırlarının üç boyutlu belgelenmesi sağlanmakta ve ısırık izinin modeli oluşturulmaktadır. Sonra dahil etme ya da dışlama amacıyla ısırık izi şüphelinin dentisyonuyla karşılaştırılır. Isırık izinin değerlendirilmesi için özelliklerinin tanınabilir ve ayırt edilebilir olması gerekmektedir. Dentisyonun şekli, dişler ve bazı anatomik özellikler spesifik örnekler oluşturmaktadır (Thali ve ark 2003; Avon, 2004; Görmez ve Yılmaz, 2014).

2.4.4. Dişe Ait Dokulardan DNA Analizi

Kimliklendirme, insan vücuduyla ilgilenmesi ve insan vücudunun kimliklendirilmesini amaçlama üzerine kurulması nedeniyle adli bilimlerin esas çalışma ve araştırma alanıdır. 1953 yılında Watson ve Crick'in insanların genetik mirasından sorumlu olan DNA çift sarmalını keşfetmeleri, bilimin neredeyse tüm alanlarında önemli değişikliklere yol açarak devrime neden olmuştur. Bu keşif, DNA dizilişini esas alarak her insanın kişisel özelliklerini karakterize eden tekniklerin gelişmesinin temeliydi. 30 sene sonra 1985 yılında Jeffrey radyoaktif moleküler problemleri oluşturarak DNA'nın yüksek oranda değişken bölgelerini ve bu bölgelerin her şahısın kendine özgü olduğunu belirlemiş ve bunu DNA parmakizi olarak adlandırmıştır (Silva ve ark 2007, Jeffrey ve ark 1985).

Kemik dokusu, saç kökü, biyopsi örneği, tükürük, kan ve diğer vücut dokuları gibi birçok biyolojik materyal insanların kimliklendirilmesi amacıyla laboratuvar testlerinde DNA izolasyonu için başarı ile kullanılmaktadır. Neredeyse insan vücudundaki tüm dokularda DNA gözlemlenebilir. Yalnız her dokudan izole edilen DNA'nın miktar ve kalitesinde farklılıklar görülür (Silva ve ark 2007).

Kişinin ölümü ile DNA analizi arasında geçen zaman süreci uzadığında yumuşak dokulardan DNA analizi imkansız hale gelmekte, ancak kemik ve diş örnekleri gibi sert dokulardan sağlanabilmektedir (Manjunath ve ark 2011).

Diş dokusunun sağlam yapısı, dişlerin nükleer ve mitokondriyel DNA (mtDNA) kaynağı olarak değerlendirilmesine olanak sağlamaktadır. Dişin mine ve dentin tabakalarının altında yer alan diş pulpası, çevresel faktörlerden bu sert tabakalar sayesinde korunmakta ve özellikle kısa ardışık tekrarlar (STR) analizi için zengin bir kaynak olarak değer kazanmaktadır. Çekirdek DNA sının degrede olduğu durumlar için mtDNA yapısal özellikleri ve sayısının fazlalığı nedeniyle çözüm kaynağı olabilmektedir (Calacal ve ark, 2003; Tuğ ve Yaşar, 2006).

Eskiden beri kimliklendirme için parmak izi kullanılmaktaydı. Ancak, yangın, iskeletleşme gibi durumlarda bunlar kolayca kaybolmaktaydı. Bunun yanında uzmanlar kimliklendirmede kullanmak üzere sıklıkla diş kayıtları gibi kurbanı ait ölümden önceki karşılaştırma elemanlarına ihtiyaç duyarlar. Ancak bu dokümanlar eksik veya kullanıma elverişli olmayabilir. Günümüzde kimliklendirmede kullanılan biyomoleküler kaynaklara ait uygulamalarla bir insanı kimliklendirmek çok küçük bir miktarda bozulmuş biyolojik materyal ile mümkün olmaktadır (Corach, 1997).

Yanmış insan kalıntılarında DNA elde etmeye dair bazı çalışmalar bulunmaktadır. 1991 yılında Sajantila ve arkadaşları aşırı derecede yanmış 10 tane cesetten aldıkları 26 diş örneği ile başarılı bir şekilde DNA tiplemesi gerçekleştirmişlerdir. Brown ve arkadaşları Bedd Branwen, Anglesey bölgesinden Tunç Çağına ait yanmış kemiklerden DNA elde etmişlerdir. Tsuchimochi ve arkadaşları deneysel çalışmalarında dişlerin pulpa kısmından, 300 C° lik ısıya maruz bırakılmalarının ardından DNA elde edilebileceğini ve tiplendirilebileceğini göstermişlerdir (Ubelaker, 2009).

İşcan ve arkadaşları adli veya geçmişe dayalı olayların moleküler analiz teknikleri ile araştırılması durumunda hangi yöntemlerin kullanılabileceği ve karşılaşılabilecek sorunların neler olabileceğini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada Erken Demir Çağı'nda (M.Ö. 1.000-900) Van Yoncatepe'de yaşayan, Urartuların ataları oldukları iddia edilen topluma ait iskeletler incelemişlerdir. Araştırmada torasik omurga ve diş kullanılmıştır. Sonuçlar, çok uzun zaman önce dahi olsa olayların çözümünde DNA analiz tekniklerini kullanmanın mümkün olduğunu göstermiştir (İşcan ve ark 2007).

Yapılan alışmalar diş örneklerinde kemiğe oranla daha fazla korunmuş genomik DNA bulunduğunu göstermektedir. Bu nedenle kişilere ait diş örneklerinden daha fazla bilgi edinmek mümkün olabilmektedir. DNA analizlerinde kemik örnekleri yerine diş örneklerinin tercih edilmesinin diğer bir nedeni ise dişlerin gözenekli bir yapıya sahip olmaması ve dişleri saran ve koruyan kuvvetli mine tabakası sayesinde kontaminasyon riskinin az olmasıdır (İmamoğlu, 2011).

Ricaud ve arkadaşları Gravette bölgesinde yapılan kazılardan elde edilen 10 iskelete ait kemik ve diş örnekleri üzerinde çalışmışlar ve elde ettikleri DNA ile STR analizi yapmışlardır. Sonuç olarak pulpa DNA'sının kemik DNA'sına göre daha iyi korunduğunu gözlemişlerdir (Ricaudve ark. 2005). Rudbeck ve arkadaşları da dişin daha az porlu yapısı ile kemiğin yapısı karşılaştırıldığında ister taze örneklerden ister çevresel etkilere maruz kalmış örneklerden olsun diş örneklerinde bulunan DNA'nın daha az kontaminasyon riski taşıdığını belirtmişlerdir (Rudbeck ve ark 2005).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. MATERYAL

Bu çalışma 2013-2014 yılları arasında İ.Ü. Adli Tıp Enstitüsü Adli Moleküler Genetik Öğrenci Laboratuvarında yapılmıştır. Çalışmada analiz için yaşları 18- 65 arasında değişen erkek ve kadın bireylerden, toplanan çürük ve sağlam 88 adet diş ve kontrol örneği olarak da yine aynı kişilerden alınan ağız içi sürüntü örnekleri kullanılmıştır. Örnekler, Kocaeli ili dâhilinde ağırlıklı olarak kamu diş hastaneleri ve kısmen de özel diş polikliniklerinden 2011-2013 yılları arasında kurumların bilgi ve izni dâhilinde toplanmıştır. Örneklerin toplanması rastsal olarak hastaların gelişine bağlı olarak (cinsiyet, yaş, dişin sağlam veya çürük oluşu gibi özellikler) kişilerin bilgisi ve izni dahilinde onamları alınmış şekilde (Aydınlatılmış onam formu Bkz. Ek2) diş hekimlerinin yardımıyla gerçekleştirilmiştir.

Diş örneklerinin her biri açık havada kurutulduktan sonra plastik kapaklı kutularda, aynı kişilerden alınan ağız içi sürüntü örnekleri ile +4 C° de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

3.1.1.Diş Örnekleri

Toplanılan diş örnekleri 4 gruba ayrılmıştır.

1. Taze kullanılan örnekler: Bu grupta toplam 21 adet diş örneği ile çalışılmıştır.

2. Yakılan örnekler: Tuşturucu madde kullanılarak aleve maruz bırakılan örnekler 10 dakika boyunca yakılmışlardır. Bu grupta toplam 24 diş örneği ile çalışılmıştır.



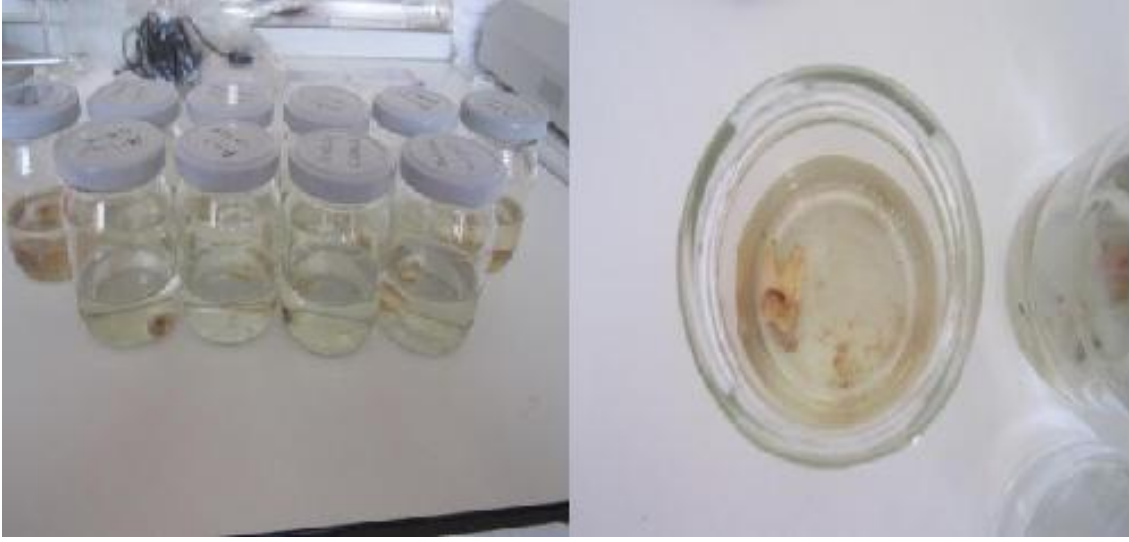
Resim 3. 1- Tutuşturucu madde kullanılarak 10 dakika süresince yakılan diş örnekleri

3. Toprakta gömülü olarak bekletilen örnekler: Bu örnekler 10 cm derinliğindeki toprağa gömülerek üzerinde bitki yetiştirilmiş, düzenli olarak sulanmış olup 2 ay ile 3 yıl arasında değişen sürelerde gömülü olarak bekletilmişlerdir. Bu grupta toplam 22 adet diş örneği ile çalışılmıştır.



Resim 3. 2. 10 cm derinliğindeki bahçe toprağında bekletilen diş örnekleri

4. Deniz suyunda bekletilen örnekler: Tuzluluk oranı farklı denizlerden (Ege ve Marmara Denizi) alınan suda cam kavanoz içerisinde 2-8 ay arasında değişen sürelerde bekletilmişlerdir. Bu grupta ise toplam 21 adet diş örneği ile çalışılmıştır.



Resim 3.3- Deniz suyunda bekletilen diş örnekleri

3.1.2. Ağız içi sürüntü örnekleri

Toplanılan diş örneklerinin sahiplerinden ağız içi sürüntü örnekleri alınarak +4 C de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

3.2. KULLANILAN KİTLER, KİMYASALLAR ve CİHAZLAR

İzolasyonda Kullanılan Kitler

QIAamp® DNA Mikro Kit (QIAGEN) (Germany)

Hibriden Blood Genomic DNA Isolation Kit

DNA Miktar Ölçümünde Kullanılan Kitler:

Quant-iT™ dsDNA HS Assay Kit (Invitrogen™)

PCR da Kullanılan Kitler

AmpFISTR® Identifiler PCR Amplification Kit

Saflaştırma için Kullanılan Kitler:

Amicon Ultra -4 Centrifugal Filter Devices

Elektroforezde Kullanılan Kimyasallar:

Hi-Di™ formamide (Applied Biosystems)

GeneScan™- 500 LIZ™ Size Standard (Applied Biosystems)

PCR ve Elektroforez İşleminde Kullanılan Cihazlar

Mikrosantrifüj- ALC Multispeed - PK121

Vortex- Harmony Mixer Uzusio- VTX- 3000L

Fluorometre Cihazı- Quibit® (Invitrogen™)

Isı Döngü Cihazı (PCR)- GeneAmp® 9700 (Applied Bioststems)

Genetik Analizatör- ABI 310 (Applied Biosystems)

3.3. YÖNTEMİN UYGULANMASI

3.3.1. Diş Örneklerinin İzolasyon için Hazırlanması:

Örnekler ilk olarak 10 dakika süre ile %10'luk çamaşır suyu çözeltisinde her 2 dakikada bir çalkalanarak temizlendi. Distile su ile durulandıktan sonra steril kağıt havlu ile kurulandı. Her bir örneğin dış yüzeyi tek kullanımlık törpü ile temizlendikten ve çürük kısımları uzaklaştırıldıktan sonra distile su ile durulandı. 56 C° de 1 saat süreyle inkübasyona bırakılarak kuruması sağlandı. Örneklerin temizliği sırasında ileri derecede çürük ve büyük oranda amalgam dolgu içeren dişler ayrılarak araştırmadan çıkarıldı.

Sterilizasyon işlemi yapılan örnekler TissueLYSER II (QIAGEN®) cihazı kullanılarak toz haline getirildi. Her bir örnekte toz haline getirme işlemi uygulandıktan sonra kontaminasyonu önlemek amacıyla cihazın parçaları her defasında önce zefirol, daha sonra %10'luk çamaşır suyu ve son olarak distile su ile yıkanarak kurulandı.

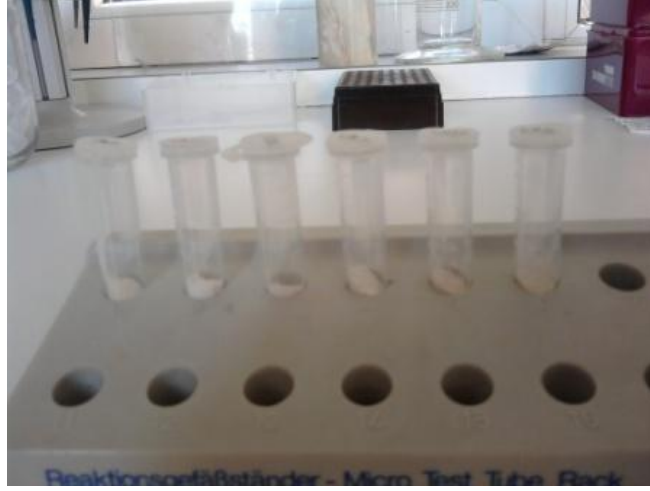


Resim 3.4. Diş Örneklerinin parçalanmasında kullanılan TissueLyser II Cihazı

3.3.2. DNA İzolasyonu

Diş Örneklerinden DNA İzolasyonu

Dişten DNA izolasyonu için Qiagen Mikro Kit DNA İzolasyon Kiti kullanılmıştır.

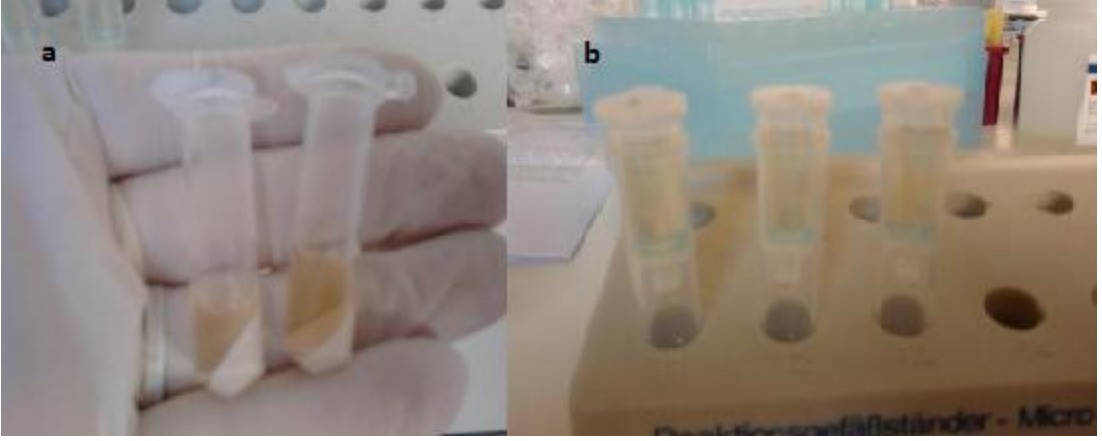


Resim 3.5. <100 mg tartılarak ephendorf tüplere konulan diş tozu örnekleri

Dişten DNA izolasyon prosedürü aşağıda belirtilmiştir:

1. 2 ml'lik ependorf tüplere koyduğumuz <100 mg diş tozu üzerine 360 μ l ATL ve 20 μ l proteinaz K tamponu ilave edilerek vorteks yardımıyla iyice çalkalandıktan sonra 56 °C ye ayarlanmış etüve konularak 1 gece inkübasyona bırakıldı.
2. Örnek vortex yardımıyla çalkalandıktan sonra 300 μ l AL tamponu ilave edilerek 10s vortekslendi.
3. Tüplere 1 μ l, 1 μ g/ μ l konsantrasyonunda taşıyıcı RNA* ilave edilerek. Vortex yardımıyla 15 saniye kadar iyice çalkalandı.
4. Tüm örnekler, her 3 dakikada 10 sn vortex yapılarak 70 C° de 10 dakika inkübasyona bırakıldı.

5. 14.000 rpm de 1 dak. santrifüj yapıldı. Süpernatant yeni bir tüpe aktarıldı (Santrifüj yapmadan direkt kolona aktardığımızda dış tozları kolonu tıkadı. Sıvıların alttaki toplama tüpüne geçmesini engelledi) .



Resim 3.6- a) 14.000 rpm de 1 dak santrifüj sonrası oluşan süpernatant.

b) filtre kolona aktarılan süpernatant.

6. Yeni tüpe 150 µl etanol (%99) ilave edilerek 15 sn vortexlendi.

7. Tüpteki çözelti dikkatli bir şekilde kolona aktarıldı.

8. 8000 rpm de 3 dak santrifüj yapılarak, kolon yeni tüpe geçirildi. Altındaki tüp içerisindeki çözelti ile birlikte atıldı.

9. Kolona 600 µl AW1 tamponu ilave edilerek, tekrar 8000 rpm de 3 dak. santrifüj yapıldı. Alt çözelti atılarak kolon yeni tüpe aktarıldı.

10. Kolona 700 µl AW2 tamponu ilave edilerek, tekrar 8000 rpm de 3 dak. santrifüj yapıldı. Alt çözelti atılarak kolon 1,5 µl 'lik yeni ephendorf tüpe aktarıldı.

11. Kolona 50 µl AE elüsyon tamponu tam merkezine gelecek şekilde ilave edilerek, 1 dak. oda sıcaklığında bekletildi.

12. 14000 rpm de 3 dak santrifüj yapıldı. Bu defa kolon atıldı. Ependorf içindeki izolatla birlikte kapağı parafinle kapatılarak +4 C° de saklanmak üzere buzdolabına kaldırıldı.

* Taşıyıcı RNA, örneklerdeki genetik materyalin spin kolon membranı tarafından tutulabilirliğini artırır. 1µg/µl konsantrasyonunda taşıyıcı RNA çözeltisi hazırlamak için 320µg liyofilize halde taşıyıcı RNA üzerine, izolasyon kiti içeriğinde bulunan AE tamponundan 320 µl eklendi. Hazırlanan çözelti kontaminasyon riskini azaltmak için küçük steril ependorf tüplere bölünüp -20 C° de saklandı.

Ağız içi Sürüntü (Swap) Örneklerinden DNA İzolasyonu

Hastalardan alınan ağız içi sürüntü örneklerinden işlem yapılıncaya kadar +4 C de saklanmıştır.

Ağız içi sürüntü örneklerinden DNA izolasyonu amacıyla Hibrigen Blood Genomic DNA Extraction Kit kullanılmıştır.

Hibrigen Blood Genomic Extraction Kit ile Ağız içi Sürüntü (Swap) Örneklerinden DNA İzolasyon Prosedürü:

1. Ağız içi sürüntü örnekleri sapından kesilerek 1,5µl'lik tüpe konuldu.
2. Tüplere 800 µl RS ilave edilerek vortex yapıldı.
3. 5000 rpm de 3 dakika santrifüj yapılarak süpernatant uzaklaştırıldı.
4. 200 µl DS eklenerek tekrar vortex yapıldı..
5. Tüm örneklere 20 µl proteinase K ve 220 µl MS ilave edilerek vortexlendi. 10 dak. 65C° de inkübasyona bırakıldı.
6. 220 µl etanol ilave edildi.
7. Tüplerin içerisindeki ağız içi sürüntü örnekleri başları dikkatlice çıkarılarak, karışım tüplerden kolona aktarıldı..
8. Kolona aktarılan karışım 1dak 12.000 rpm de santrifüj yapıldı. Alt taraftaki çözelti atıldı.

9. Yeni tüpe takılan kolona 500 µl wash PS ilave edildi. 1 dak 12.000 rpm de santrifüj yapıldı ve alt tarafa geçen çözelti uzaklaştırıldı.

10. Toplama tüpü tekrar değiştirilerek, 500 µl wash PE ilave edildi. 1 dak. 12.000 rpm de santrifüj yapıldı.

11. 12.000 rpm de 3 dak boş santrifüj yapıldı.

12. Son olarak filtre kolon steril 1,5 ml'lik yeni mikrosantrifüj tüpüne yerleştirildi ve 30-100 µl elüsyon tamponu ilave edildi.

13. 2 dak oda sıcaklığında bekletildi.

14. 12.000 rpm de 2 dak santrifüj yapıldı. Kolon atıldı. Tüpteki izolat +4 C° de saklanmak üzere buzdolabına kaldırıldı.

3.3.3.DNA Miktar Tayini

Örneklerin DNA miktarları The Quant-iT™ dsDNA HS Assay Kit kullanılarak fluorometrik yöntemle belirlendi. İşlem basamakları aşağıda belirtildiği gibidir.

The Quant-iT™ dsDNA HS Assay Kit ile DNA Konsantrasyonlarının Belirlenmesi

1. Ölçülecek örnek sayısı ve cihazın kalibrasyonu için gerekli 2 adet standart ile birlikte toplam sayı belirlenerek, 0,5 ml'lik steril tüpler hazırlandı.

2. Miktar tayin kitinin içeriğinde bulunan Quant-iT™ dsDNA HS reaktifi ölçümü yapılacak her örnek için 200:1 oranında "Quant-iT™ working" çözeltisi ile seyreltildi. Tüplere bu çözeltiden 200 µl'lik karışımlar hazırlandı.

3. Hazırlanan bu karışımdan standartların ölçüleceği tüplere 190 µl, örneklerin ölçüleceği tüplere ise 199 µl konuldu.

4. İki standarttan da 10 µl alınarak 190 µl'lik karışım içeren tüplere eklendi.

5. İncelenecek örneklere ait özütlerden de 1 µl alınarak, 199 µl'lik karışım içeren tüplere eklendi.

6. Elde edilen karışımlar kısa süre vortexlenerek, 5 dakika oda ısısında bekletildi.

7. Öncelikli olarak standartların Qubit™ fluorometre cihazında DNA konsantrasyonları belirlenerek aletin kalibrasyonu sağlandı.

8. Kalibre edilen Qubit™ fluorometer cihazında sırasıyla örnekler ölçülerek miktarları not edildi.

3.3.4. PCR Protokolü

Çalışmamızda PCR için AmpFISTR- Identifiler PCR Amplification Kit kullanılmıştır.

Her bir örnek için:

5,25 µl Tampon

2,25 µl Primer

0,25 µl Taq gold

5µl örnek DNA'sı

Toplamda 12,25 µl'lik karışım hazırlanarak örnekler GeneAmp® 9700 (Applied Biosystems) PCR Cihazı'na yerleştirildi.

Kullanılan PCR Programı:

95 C° de	11 dakika	} 28 siklus
94 C ° de	1 dakika	
59 C° de	1 dakika	
72 C° de	1 dakika	
60 C° de	60 dakika	
4 C°de	∞	

Elde edilen PCR ürünleri elektroforez yapılarak tiplendirildi.

AmpFISTR Identifiler PCR Amplification Kit kullanılarak çoğaltımı yapılan 16 STR Lokusuna ait bilgiler Tablo 3.1. de sunulmuştur.

Tablo 3.1 AmpFISTR Identifiler PCR Amplification Kit ile çoğaltılan lokuslar (kit kullanım klavuzu)

Lokus adı	Kromozomdaki yerleşimi	Identifiler Allelic Ladder'daki Alleller	İşaretleyici Boya	Kontrol DNA 9947A	
D8S1179	8, 9 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19	8, 9 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19	6-FAM	13a	
D21S11	21q11.2-q21	24, 24.2, 25, 26, 27, 28, 28.2, 29, 29.2, 30, 30.2, 31, 31.2, 32, 32.2, 33, 33.2, 34, 34.2, 35, 35.2, 36, 37, 38		30b	
D7S820	7q11.21-22	6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15		10, 11	
CSF1PO	5q33.3-34	6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15		10, 12	
D3S1358	3p	12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19		VIC	14, 15
TH01	11p15.5	4, 5, 6, 7, 8, 9, 9.3, 10, 11, 13.3	8, 9.3		
D13S317	13q22-31	8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15	11c		
D16S539	16q24-qter	5, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15	11, 12		
D2S1338	2q35-37.1	15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28	19, 23		
D19S433	19q12-13.1	9, 10, 11, 12, 12.2, 13, 13.2, 14, 14.2, 15, 15.2, 16, 16.2, 17, 17.2	NED		14, 15
vWA	12p12-pter	11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24			17, 18
TPOX	2p23-2per	6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13		8d	
D18S51	18q21.3	7, 9, 10, 10.2, 11, 12, 13, 13.2, 14, 14.2, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27		15, 19	
Amelogenin	X: p22.1-22.3 Y: p11.2	X, Y		PET	X
D5S818	5q21-31	7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16	11e		
FGA	4q28	17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 26.2, 27, 28, 29, 30, 30.2, 31.2, 32.2, 33.2, 42.2, 43.2, 44.2, 45.2, 46.2, 47.2, 48.2, 50.2, 51.2	23, 24		

3.3.5. PCR Ürünlerinin Saflaştırılması

Çalışmamızda PCR ürünlerini saflaştırmak amacıyla Amicon Ultra -4 Santrifüj Filtre Cihazı kullanılmıştır. İşlem basamakları aşağıda belirtildiği şekildedir.

1. Her bir örnekten 4ml alınarak Amicon Ultra filtre cihazı içine konuldu.
2. Filtre 4000rpm de 10-40 dakika arası santrifüj edildi.
3. Filtrenin altında kalan solüsyon bir pipet yardımıyla çekip alındı. Başka bir santrifüj tüpüne aktarıldı.

3.3.6. PCR ürünlerinin ABI 3130 Genetik Analizör Cihazında Analizi

Örnek Hazırlanması

ABI 3130 Genetik Analizör cihazında analiz edilecek her bir örnek için aşağıdaki gibi karışım hazırlandı:

1. 12,5 µl Hi-Di™ formamide (Applied Biosystems)
2. 0,5 µl GenScan™ 500 LIZ™ Size Standard (Applied Biosystems)
3. 1 µl PCR ürünü

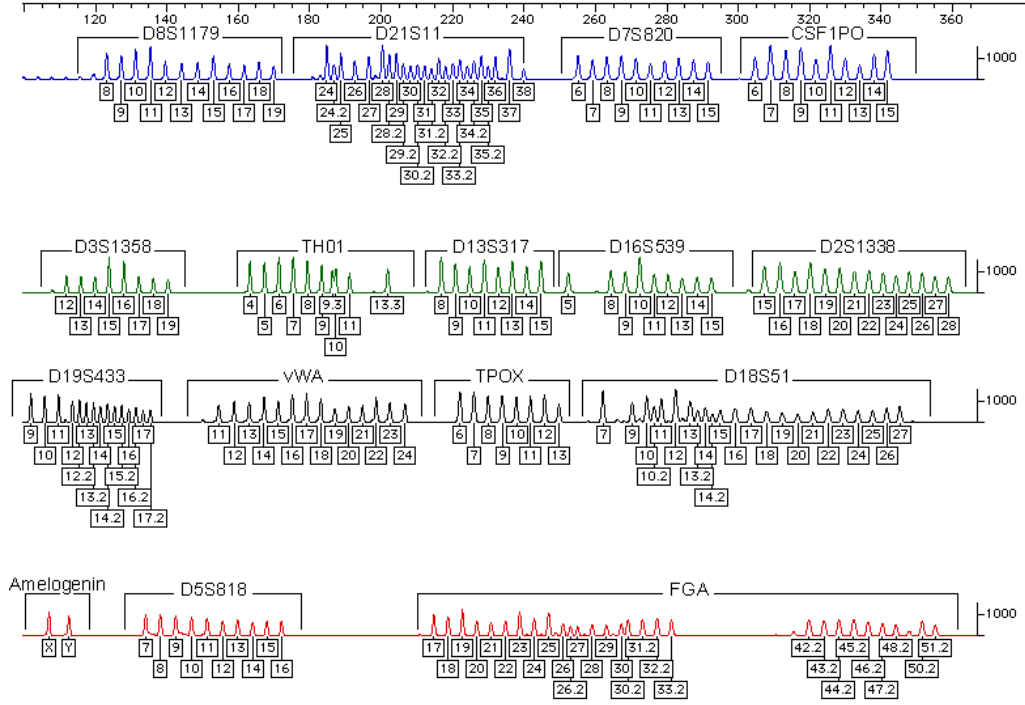
Örneklerin Elektroforezi

Analiz için hazırlanan karışım, 5 dakika 95 C° de denatüre edildi, hemen ardından 3 dakika buzda bekletildi.

Yukarıda hazırlanan PCR ürün karışımı ABI PRISM 3130 cihazına yerleştirildi. Örnekler, 36 cm kapilerle, POP-4 polimeri kullanılarak, enjeksiyon süresi 5 saniye, yürütme süresi 24 dakika olacak şekilde 60C de 15000 V de DS-33 Matrix standardı ve GS POP-4 (1ml) – C Filtresi seçilerek yürütüldü.

Örneklerin Analizi

Örneklerin elektroforezi ile elde elektroferogram görüntüleri PicScan programı ile analiz edildi. Tüm örneklerin alel tiplerini belirlemek için 16 STR lokusunun analizi Şekil 7 teki alelik cetvele göre yapılmıştır.



Şekil 3.1. İdentifiler 16 STR lokuslarına ait alelik cetvel (Kit kullanım klavuzu)

4. BULGULAR

Bu araştırmada çeşitli evresel Őartlar ve yanmaya maruz kalmış diř ve diře ait dokulardan DNA izolasyonu yapılmış ve elde edilen ekirdek DNA sının Őahıs kimliklendirilmesinde evresel Őartların ve yanmış dokuların ne kadar etkili ve başarılı olduğu araştırılmıştır. Bu amaçla aynı Őahıslardan alınan ağız içi sūrıntülerden de DNA izolasyonu yapılmış ve elde edilen iki profil arasında karşılaştırma yapılarak, başarı oranları hesaplanmıştır.

Bu bōlümde araştırma sonucunda elde edilen bulgular Őzetlenmekte, bulguların yorumlanmasıyla ulaşılan sonuçlar sıralanmakta ve bunlara dayalı bazı Őnerilere yer verilmektedir.

4. 1. Diş ve Ağız içi sürüntü örneklerinden elde edilen DNA miktar tayini sonuçları

Örneklerden izolasyonu yapılan DNA' ların miktar tayini çalışmaları sonucunda elde edilen veriler Tablo 4.1, Tablo 4.2, Tablo 4.3 ve Tablo 4.4'te gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Taze örneklere ait diş ve ağız içi sürüntü örneklerinden izole edilen DNA miktarları

Örnek Adı	Yaş	Cinsiyet	Konsantrasyon (µg/µl)
DI/1	48	Erkek	<0,5 ng/ml
SI/1			1,72 µg/µl
DI/2	27	Kadın	0,11 µg/µl
SI/2			1,84 µg/µl
DI/3	46	Kadın	<0,50 ng/ml
SI/3			0,524 µg/µl
DI/4	46	Kadın	<0,50 ng/ml
SI/4			0,796 µg/µl
DI/5	14	Kadın	<0,50 ng/ml
SI/5			0,403 µg/µl
DI/6	38	Kadın	<0,5 ng/ml
SI/6			0,867 µg/µl
DI/8	52	Kadın	0,71 µg/µl
SI/8			4,53 µg/µl
DI/9	52	Kadın	<0,5 ng/ml
SI/9			7,12 µg/µl
DI/10	35	Erkek	0,56 µg/µl
SI/10			3,38 µg/µl
DI/11	21	Erkek	0,72 µg/µl
SI/11			2,65 µg/µl
DI/12	42	Erkek	0,78 µg/µl
SI/12			4,84 µg/µl
D/13	50	Kadın	<0,50 ng/ml
SI/13			13,2 µg/µl
DI/14	28	Erkek	1,64 µg/µl
SI/14			0,845 µg/µl
DI/15	57	Kadın	0,256 µg/µl
SI/15			20,8 µg/µl
DI/17	62	Erkek	0,271 µg/µl
SI/17			12,8 µg/µl
DI/18	30	Kadın	<0,50 ng/ml
SI/18			0,203 µg/µl
DI/19	26	Erkek	0,3 µg/µl
SI/19			7,89 µg/µl
DI/20	58	Kadın	0,11 µg/µl
SI/20			9,53 µg/µl
DI/22	30	Kadın	0,282 µg/µl
SI/22			0,788 µg/µl

D: Diş örnekleri

S: Ağız içi sürüntü örnekleri

Tablo 4.2. Yakılmış dişler ve ağız içi sürüntü örneklerinden izole edilen DNA miktarları

Örnek Adı	Yaş	Cinsiyet	Konsantrasyon ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)
DII/1	56	Erkek	<0,50 ng/ml
SII/1			9,75 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
DII/2	34	Erkek	<0,50 ng/ml
SII/2			<0,50 ng/ml
DII/3	49	Erkek	0,102 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
SII/3			2,98 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
DII/4	43	Erkek	0,216 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
SII/4			1,06 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
DII/5	33	Kadın	<0,50 ng/ml
SII/5			<0,50 ng/ml
DII/6	24	Kadın	<0,50 ng/ml
SII/6			3,13 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
DII/7	18	Kadın	<0,50 ng/ml
SII/7			<0,5 ng/ml
DII/8	76	Erkek	<0,50 ng/ml
SII/8			7,56 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
DII/9	45	Erkek	<0,50 ng/ml
SII/9			<0,50 ng/ml
DII/10	51	Erkek	<0,50 ng/ml
SII/10			15,9 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
DII/11	46	Erkek	1,58 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
SII/11			5,45 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
DII/12	52	Kadın	<0,50 ng/ml
SII/12			6,20 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
DII/13	35	Kadın	0,16 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
SII/13			0,694 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
DII/14	39	Kadın	0,17 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
SII/14			5,05, $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
DII/15	52	Erkek	<0,50 ng/ml
SII/15			47,7 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
DII/16	18	Erkek	0,231 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
SII/16			3,32 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
DII/17	14	Kadın	0,233 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
SII/17			5,29 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
DII/18	20	Kadın	0,17 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
SII/18			7,54 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
DII/19	35	Erkek	0,387 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
SII/19			16,6 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
DII/20	40	Kadın	<0,5 ng/ml
SII/20			18,4 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
DII/21	31	Kadın	0,19 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
SII/21			3,21 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
DII/23	39	Erkek	0,222 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
SII/23			24,3 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
DII/24	65	Erkek	<0,50 ng/ml
SII/24			5,06 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
DII/25	74	Erkek	0,286 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
SII/25			2,56 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
DII/26	26	Kadın	<0,5 ng/ml
SII/26			<0,5 ng/ml

Tablo 4.3. Deniz suyunda bekletilmiş dişler ve ağız içi sürüntü örneklerinden izole edilen DNA miktarları

Örnek Adı	Yaş	Cinsiyet	Konsantrasyon (µg/µl)
DIII/1	31	Erkek	0,11 µg/µl
SIII/1			1,84 µg/µl
DIII/2	32	Kadın	0,203 µg/µl
SIII/2			0,19 µg/µl
DIII/3	17	Erkek	0,17 µg/µl
SIII/3			6,2 µg/µl
DIII/4	32	Erkek	<0,5 ng/ml
SIII/4			7,92 µg/µl
DIII/5	48	Erkek	0,229 µg/µl
SIII/5			2,72 µg/µl
DIII/6	25	Kadın	0,15 µg/µl
SIII/6			0,17 µg/µl
DIII/7	21	Erkek	0,18 µg/µl
SIII/7			0,252 µg/µl
DIII/8	38	Erkek	0,223 µg/µl
SIII/8			1,19 µg/µl
DIII/9	28	Kadın	0,12 µg/µl
SIII/9			0,14 µg/µl
DIII/10	37	Erkek	0,18 µg/µl
SIII/10			0,307 µg/µl
DIII/11	25	Erkek	0,387 µg/µl
SIII/11			4,9 µg/µl
DIII/12	21	Kadın	0,289 µg/µl
SIII/12			7,67 µg/µl
DIII/13	51	Kadın	0,19 µg/µl
SIII/13			0,913 µg/µl
DIII/14	27	Kadın	0,2 µg/µl
SIII/14			6,59 µg/µl
DIII/15	19	Erkek	0,19 µg/µl
SIII/15			28,5 µg/µl
DIII/16	27	Erkek	0,14 µg/µl
SIII/16			19,5 µg/µl
DIII/17	40	Kadın	0,266 µg/µl
SIII/17			0,19 µg/µl
DIII/18	28	Kadın	0,2 µg/µl
SIII/18			0,763 µg/µl
DIII/19	24	Kadın	0,26 µg/µl
SIII/19			<0,5 ng/ml
DIII/20	36	Erkek	0,2 µg/µl
SIII/20			1,59 µg/µl
DIII/22	41	Kadın	0,17 µg/µl
SIII/22			0,88 µg/µl
DIII/23	37	Erkek	0,231 µg/µl
SIII/23			2,49 µg/µl
DIII/24	54	Erkek	0,18 µg/µl
SIII/24			2,10 µg/µl
DIII/25	42	Kadın	0,11 µg/µl
SIII/25			<0,50 ng/ml
DIII/26	33	Erkek	0,467 µg/µl
SIII/26			4,13 µg/µl

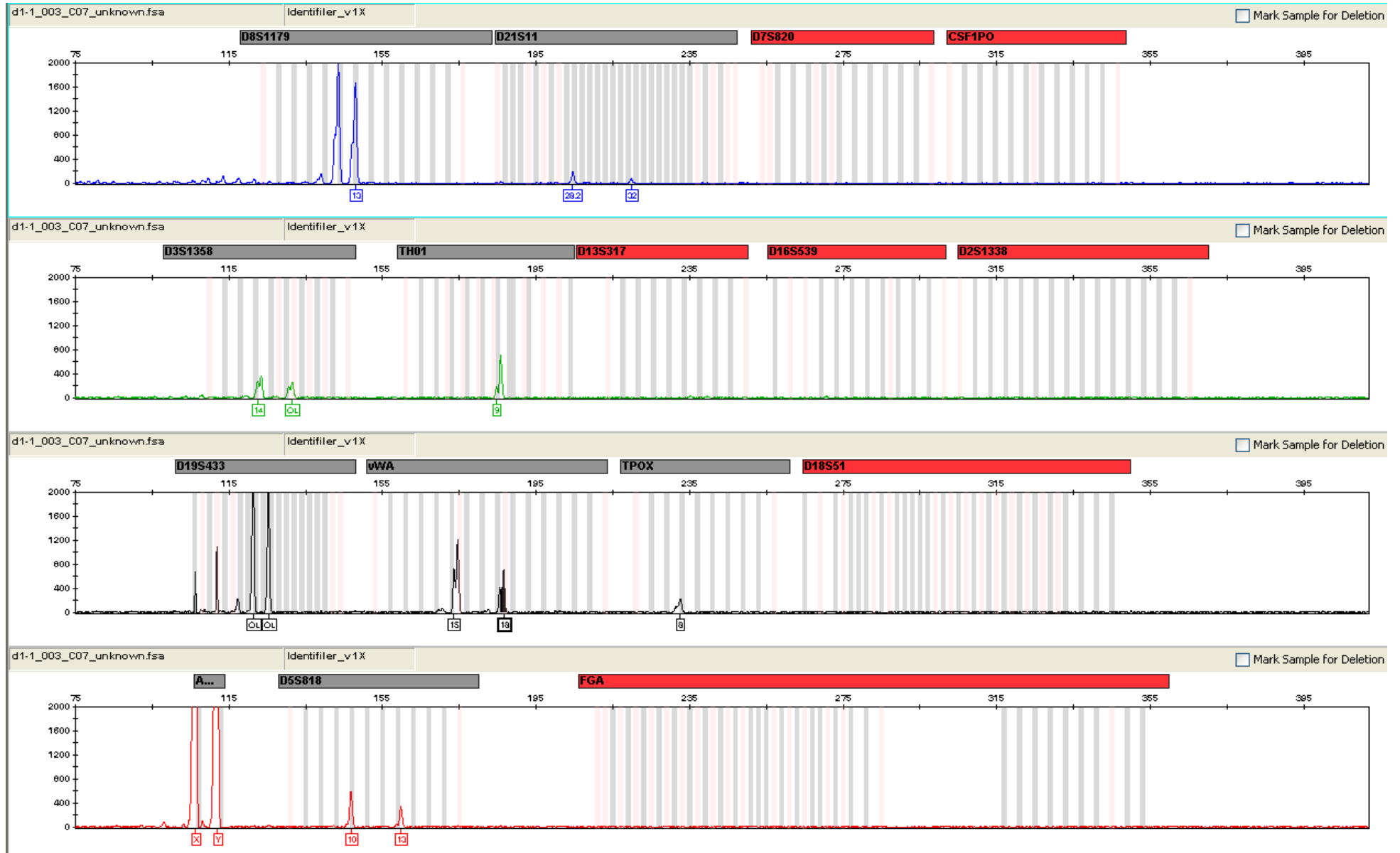
Tablo 4.4.Toprakta gömülerek bekletilen dişler ve ağız içi sürüntü örneklerinden izole edilen DNA miktarları

Örnek Adı	Yaş	Cinsiyet	Konsantrasyon (µg/µl)
DIV/1	34	Erkek	0,215 µg/µl
SIV/1			<0,5 ng/ml
DIV/2	36	Kadın	0,1 µg/µl
SIV/2			2,43 µg/µl
DIV/3	49	Erkek	0,11 µg/µl
SIV/3			10,4 µg/µl
DIV/4	20	Kadın	<0,5 ng/ml
SIV/4			<0,5 ng/ml
DIV/5	52	Erkek	0,222 µg/µl
SIV/5			0,11 µg/µl
DIV/6	67	Erkek	<0,5 ng/ml
SIV/6			6,79 µg/µl
DIV/7	29	Erkek	0,1 µg/µl
SIV/7			2,97 µg/µl
DIV/8	41	Kadın	0,16 µg/µl
SIV/8			27,3 µg/µl
DIV/9	47	Erkek	0,13 µg/µl
SIV/9			0,14 µg/µl
DIV/10	8	Erkek	0,18 µg/µl
SIV/10			0,486 µg/µl
DIV/11	46	Erkek	0,23 µg/µl
SIV/11			0,389 µg/µl
DIV/12	45	Kadın	0,13 µg/µl
SIV/12			3,16 µg/µl
DIV/13	56	Erkek	0,19 µg/µl
SIV/13			0,443 µg/µl
DIV/14	62	Erkek	0,17 µg/µl
SIV/14			0,17 µg/µl
DIV/15	51	Kadın	0,208 µg/µl
SIV/15			0,523 µg/µl
DIV/16	60	Erkek	0,15 µg/µl
SIV/16			1,96 µg/µl
DIV/17	30	Erkek	1,16 µg/µl
SIV/17			0,812 µg/µl
DIV/18	30	Kadın	0,13 µg/µl
SIV/18			3,21 µg/µl
DIV/19	42	Kadın	0,16 µg/µl
SIV/19			1,05 µg/µl
DIV/20	29	Erkek	0,11 µg/µl
SIV/20			1,62 µg/µl
DIV/21	27	Kadın	0,13 µg/µl
SIV/21			0,23 µg/µl
DIV/22	18	Erkek	0,14 µg/µl
SIV/22			1,45 µg/µl
DIV/23	22	Kadın	0,372 µg/µl
SIV/23			2,12 µg/µl
DIV/24	36	Kadın	0,15 µg/µl
SIV/24			0,19 µg/µl
DIV/25	19	Erkek	0,13 µg/µl
SIV/25			0,479 µg/µl
DIV/26	29	Kadın	0,11 µg/µl
SIV/26			1,09 µg/µl

4.2. Diş ve ağız içi sürüntü örneklerine ait STR profilleri

Tablo 4.5. Taze diş örneklerinden elde edilen STR profilleri

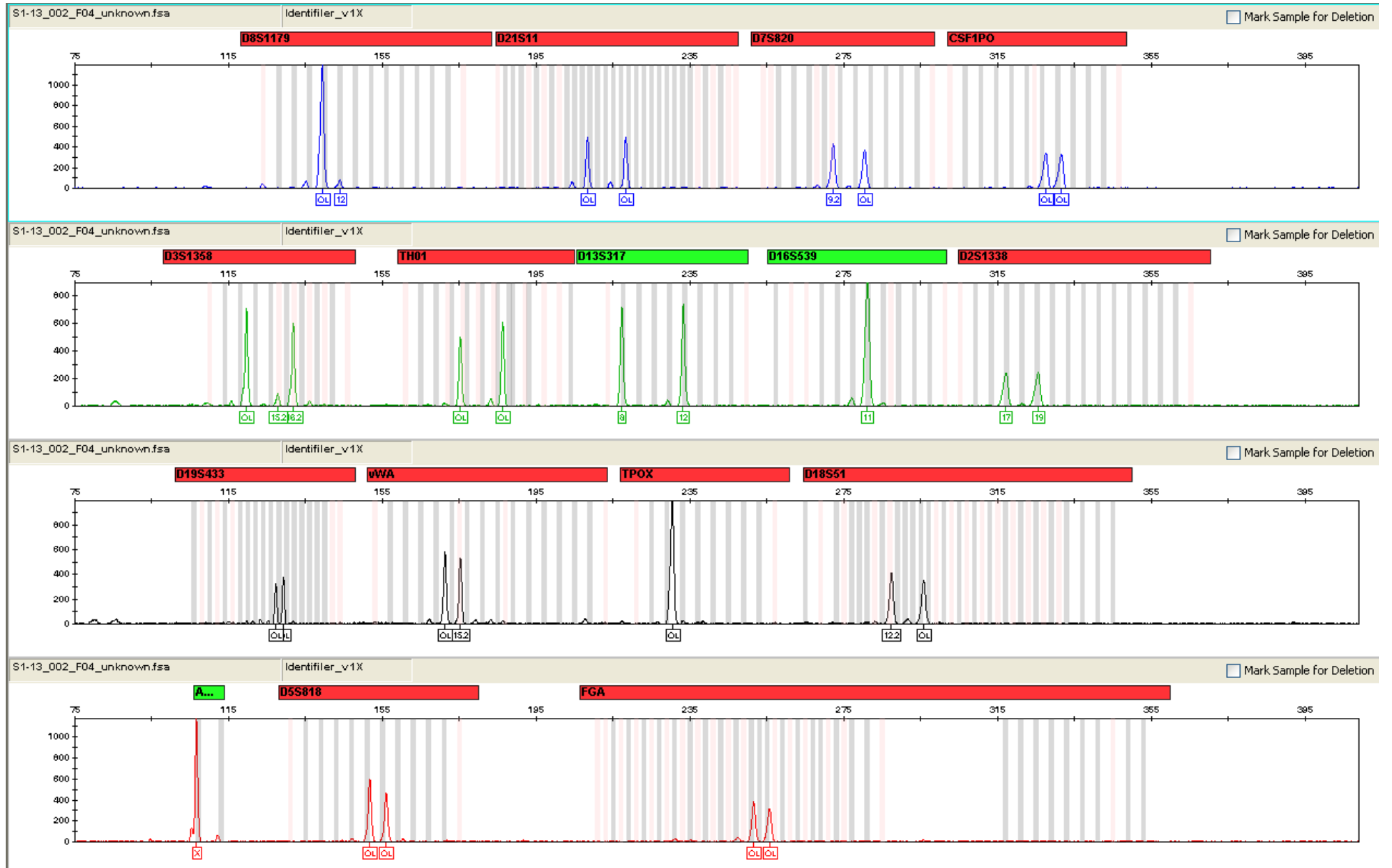
	D8S1179	D21S11	D7S820	CSF1PO	D3S1358	THO1	D13S317	D16S539	D2S1338	D19S433	vWA	TPOX	D18S51	Amelogenin	D5S818	FGA
DI/1	12-13	29,2-32	10-10	10-10	14-16	5-9	8-10	11-12	15-19	13-15	13-14	6-8	13-14	XY	10-13	25-27
DI/2	12-14	28,2-28,2		14-14	14-15	5-7	12-	12-12	23-25	11-12	15-16	8-11		XX	12-13	24-25
DI/3	12-13	27-29,2								12,2-12,2	17-18,2			XX	10-11	
DI/4																
DI/5	13-13	29,2-31	7-10	11-11	14-14	7-7	12-12	8-10	17-25	13-14	15-17	7-7	13-14,2	XX	13-13	22-24
DI/6	12-12	28,2-30,2	9-9	10-12	15-16	5-6	10-12	10-10	20-25	12,2-14	14-15	7-10	11-12	XX	13-13	24-26
DI/7	12-12	28,2-31	8-10	10-11	15-16	8-8	12-12	12-12	17-21	12,2-13,2	17-17	7-9	13,2-16	XY	11-13	21-22
DI/8	13-14	28,2-29,2	8-10		15-16	6-8	11-11	8-12	16-16	12-14,2	15-16	8-11	14,2-14,2	XX	11-13	21-23
DI/9	11-14	28-31		14-14						9-13				XX	8-11	26-26
DI/10	9-13	29,2-30,2	9-12	10-10	18-18	6-9	11-12	8-10	19-24	13-13,2	16-17	7-7	13-16	XY	12-13	24-25
DI/11	12-14	27-31	8-11	10-11	15-16	6-6	9-10	10-11	17-23	12-13	14-16	8-8	12-13,2	XY	11-11	22-24
DI/12	9-10 12-13?	27-30,2	10-10?	10-10	13-15	5-6	8-10	11-12	18-18	13-15,2	13-14	6-8	13-14	XY	12-13	25-27
DI/13																
DI/14	10-12	28,2-30			13-15	7-7,9	10-11	10-10	17-22	12-13				XY	12-13	25-27
DI/15	11-14	27-27	12-12?	14-14	15-16	5-8	11-12	10-11	21-21	12-13	13-15	8-11	16-16	XX	11-13	
DI/16	13-14	32,2-34,2	10-11	14-14	16-16	5-8	12-12	8-12	17-23	13-14	14-17	8-11		XY	12-12	21-23
DI/17	12-14	27-27	11-12		13-14	6-6	8-10			12-13			16-18	XY		
DI/18	12-12	28,2-30	8-10	10-12	15-16	7-9	11-11	10-10	23-24	12-13	15-16	11-12	13,2-14,2	XX	11-12	22-23
DI/19																
DI/20	12-14	28,2-31,2	10-11	11-12	15-18	5-5	8-11	10-10	18-20	12-12	13-17	7-7	11,2-14,2	XX	11-13	24-26
DI/22	12-13	27-28,2	8-10	10-10	13-16	6-6	8-10	8-11	19-21	12-13	13-14	8-8	14,2-14,2	XX	11-12	24-26



Resim 4.1. Taze dış örneklerine ait bir elektroferogram

Tablo 4.6. Taze diş örneklerine ait kontrol ağız içi sürüntü örneklerine ait STR profilleri

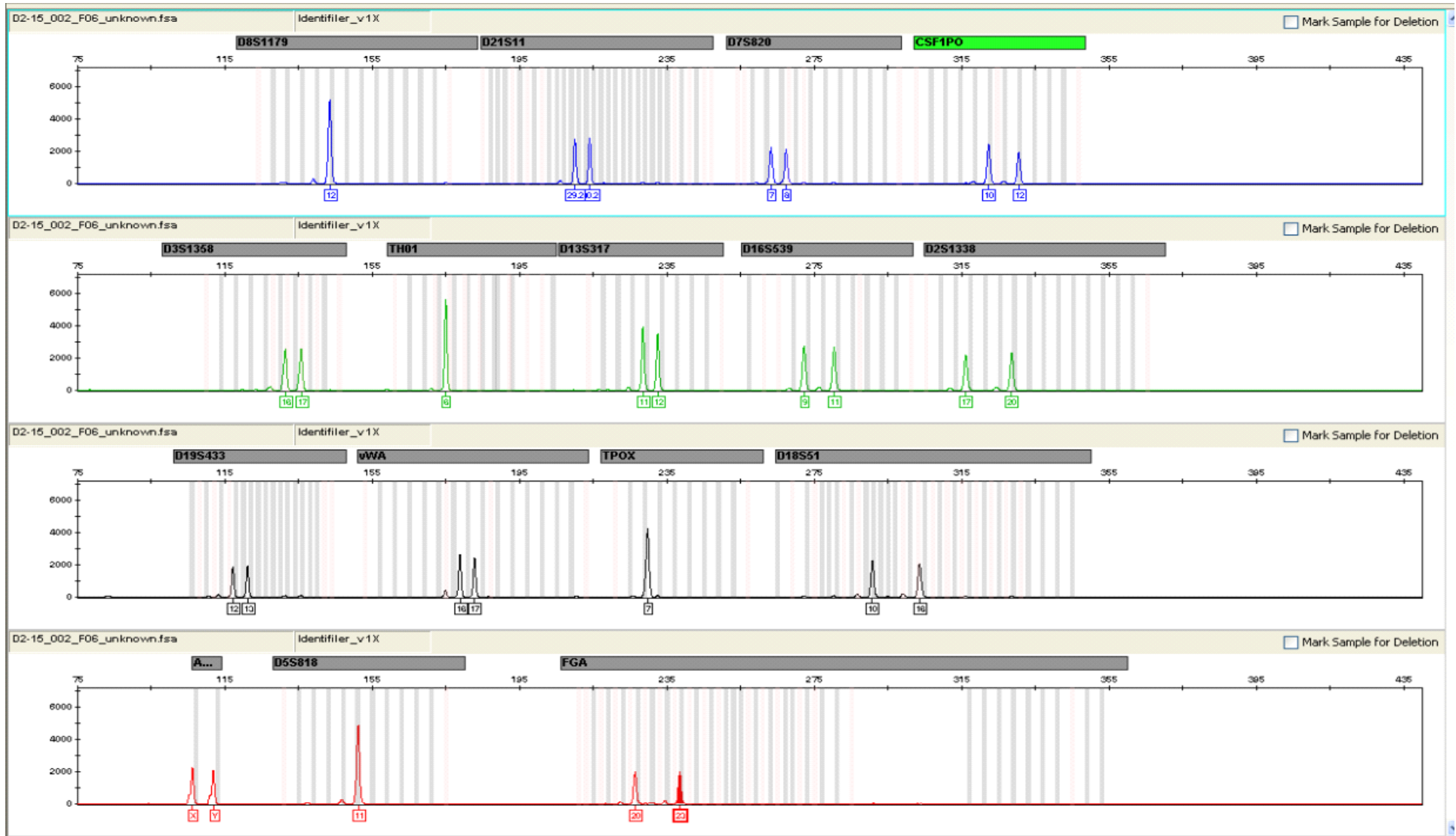
	D8S1179	D21S11	D7S820	CSF1PO	D3S1358	TH01	D13S317	D16S539	D2S1338	D19S433	vWA	TPOX	D18S51	Amelogenin	D5S818	FGA
SI/1	11-12	27-30,2	10-10	10-10	13-15	5-6	8-10	11-12	15-19	13-15	13-14	6-8	13-14	XY	12-13	25-27
SI/2																
SI/3	12-13									12,2-12,2	17-18,2			XX		
SI/4	12-13	30-31			16,2-17,2	8-9	11-12	8-13	15-24	12,2-14	15-16	8-8	13-13	XY	9-11	19-22
SI/5	13-13	29,2-31	7-10	11-11	14-14	7-7	12-12	8-10	17-25	13-14	15-17	7-7	13-14,2	XX	13-13	22-24
SI/6	12-12	28,2-30,2	9-9	10-12	15-16	5-6	10-12	10-10	20-25	12,2-14	14-15	7-10	11-12	XX	13-13	24-26
SI/7	12-12	28,2-31	8-10	10-11	15-16	8-8	12-12	12-12	17-21	12,2-13,2	17-17	7-9	13,2-16	XY	11-13	21-22
SI/8	13-14	28,2-29,2	8-10	8-13	15-16	6-8	11-11	8-12	16-16	12-14,2	15-16	8-11	14,2-14,2	XY	11-13	21-23
SI/9	11-14				13-?					9-12,2				XX		
SI/10	9-13	29,2-30,2	9-12	10-10	18-18	6-9	11-12	8-10	19-24	13-13,2	16-17	7-7	13-16	XY	12-13	24-25
SI/11																
SI/12																
SI/13	11-12	29-30	9,2-		15,2-16,2	7-9,3	8-12	-11		12,2-14	14-16	8-9		XY		
SI/14	8-10	27-27		14-14	13-13									XY		
SI/15	11-14	27-27		14-14	15-16	5-8	11-12	10-11	21-21	12-13	13-15	8-11	16-16	XX	11-13	
SI/16	13-14	32,2-34,2	10-11	14-14	16-16	5-8	12-12	8-12	17-23	13-14	14-17	8-11	12-16	XY	12-12	21-23
SI/17																
SI/18																
SI/19																
SI/20	12-14	28,2-31,2	10-11	11-12	15-18	5-5	8-11	10-10	18-20	12-12	13-17	7-7	11,2-14,2	XX	11-13	24-26
SI/22																



Resim 4.2. Taze örneklere ait kontrol ağız içi sürüntü örneklerine ait bir elektroferogram görüntüsü

Tablo 4.7. Yakılmış diş örneklerine ait STR Profilleri

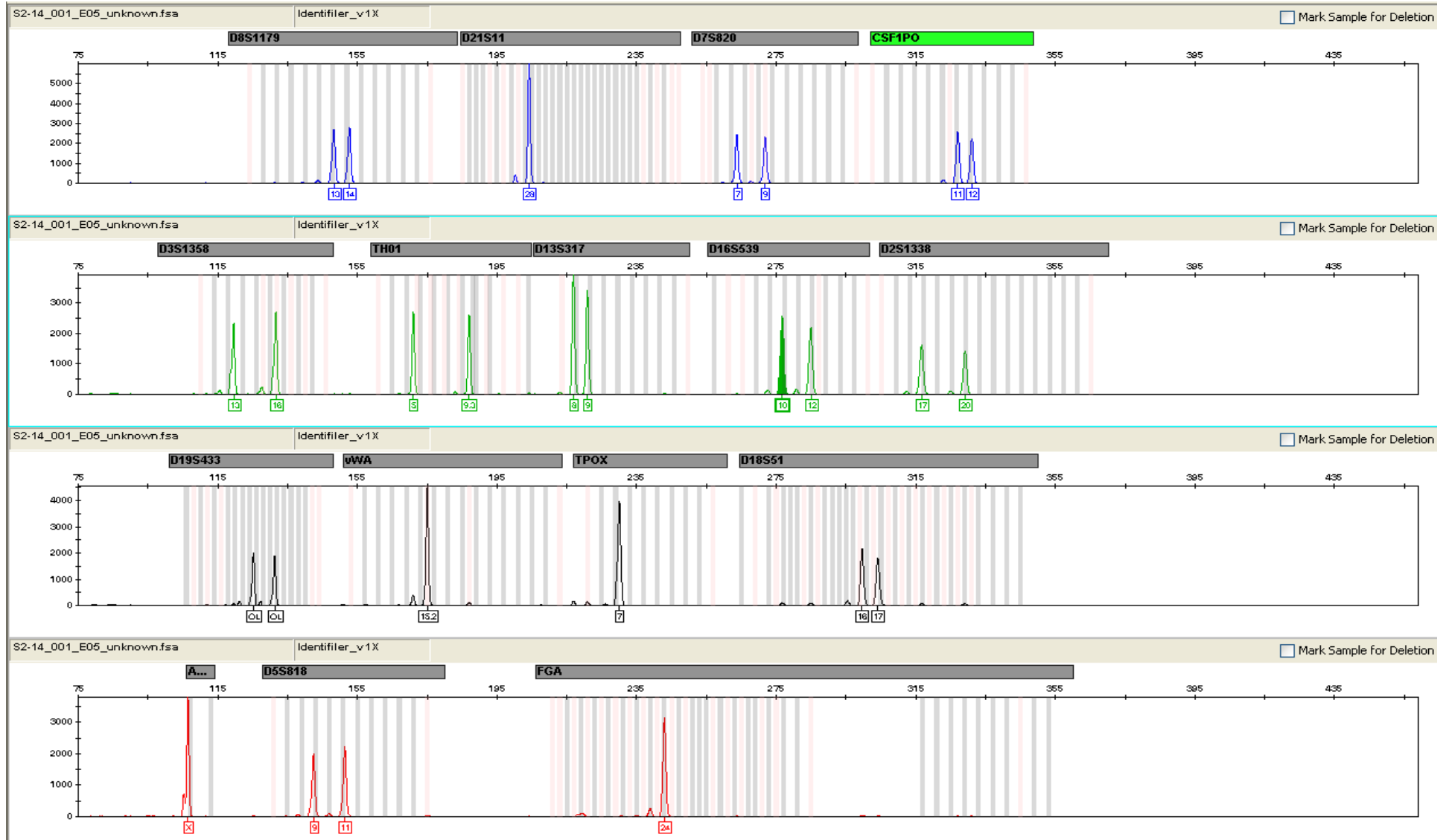
	D8S1179	D21S11	D7S820	CSF1PO	D3S1358	TH01	D13S317	D16S539	D2S1338	D19S433	vWA	TPOX	D18S51	Amelogenin	D5S818	FGA
DII/1	12-13	28,2-32			14-16	9-9	12-13	8-8	18-18	13-14	15-18	8-8		XY	10-13	20-21
DII/2	13-14	28,2- 32			13-15	5-7	8-11			13,2-14,2	14-15	8-11		XY	12-12	
DII/3	14-14	27-28,2			13-16	6-8	8-8	10-10		13-13	14-14	8-11		XY	9-10	
DII/4	11-12	29,2-32			15-15	7-8	12-12	8-11		13-15	17-17	9-10		XY	11-11	
DII/5	14-14			11-11	13-13	5-9				13-14	13-13			XX		44,2-44,2
DII/6	12-13	29,2-31			16-16	7-8	12-13	10-10	17-19	12,2-14	13-15	8-11		XX	12-13	19-24
DII/8																
DII/9	9-9	28,2-29,2			14-14	6-9	8-13		23-25	12-12	14-17	10-11		XY	10-11	
DII/10	8-12	27-28,2			15-16	5-8				14-15	13-16	8-		XY	10-11	
DII/11	9-11	29,2-30			14-17	8-9	10-12	8-11	18-23	11-12	15-16	8-11		XY	10-13	19-32,2
DII/12	13-13	28,2-29,2		14-14	14-14	5-5	12-12	8-15		12-13	13-17	8-9	16-16?26	XX	11-12	19,2-19,2
DII/13	11-11	29,2-32	9-11	11-12	13-16	6-9	8-12	11-11	17-19	14,2-15	15-16	7-7	13-14,2	XX	11-12	26-27
DII/14	12-13	28,2-31	8-11	10-12	14-14	7-9	12-13	9-10	17-20	11-12	14-18	7-10	13,2-14,2	XX	12-13	18-22
DII/15	11-12	29,2-30,2	7-8	10-12	16-17	6-9	11-12	9-11	17-20	12-13	16-17	7-8		XY	9-11	20-23
DII/17	12-14				15-17	6-8				12-13	16-17			XX	11-11	
DII/18	12-14	27-28,2	8-10	11-11	16-16	7-9	8-11	8-12	17-23	12,2-12,2	17-17	7-7	14,2-16	XX	11-13	20-20
DII/19	9-12	29,2-32	8-11	10-12	17-17	7-8	8-13	8-12	17-18	12-12,2	16-19	7-10	13-17	XY	10-12	19-23
DII/20	9-15				15-16	6-9				11-15	13-13			XX		
DII/21	11-15	31-32			15-17	5-5	11-11	10-10		13-13,2	13-17	8-10	16-26	XX	13-13	
DII/22																
DII/23	13-14	24,2-31	11-12	10-11	14-14	7,3-7,3	9-11	10-11	18-18	12-12	16-18,2	7-10	16-18	XY	10-12	22-23
DII/24	11-13	29,2-31			16,2-17,2	6-9	11-11	8-8		12-12	13-14	8-8		XY	11-12	25-31,2
DII/25																
DII/26																



Resim 4.3. Yakılmış diş örneklerine ait bir elektroferogram

Tablo 4.8. Yakılmış diş örneklerine ait kontrol ağız içi sürüntü örneklerine ait STR profili

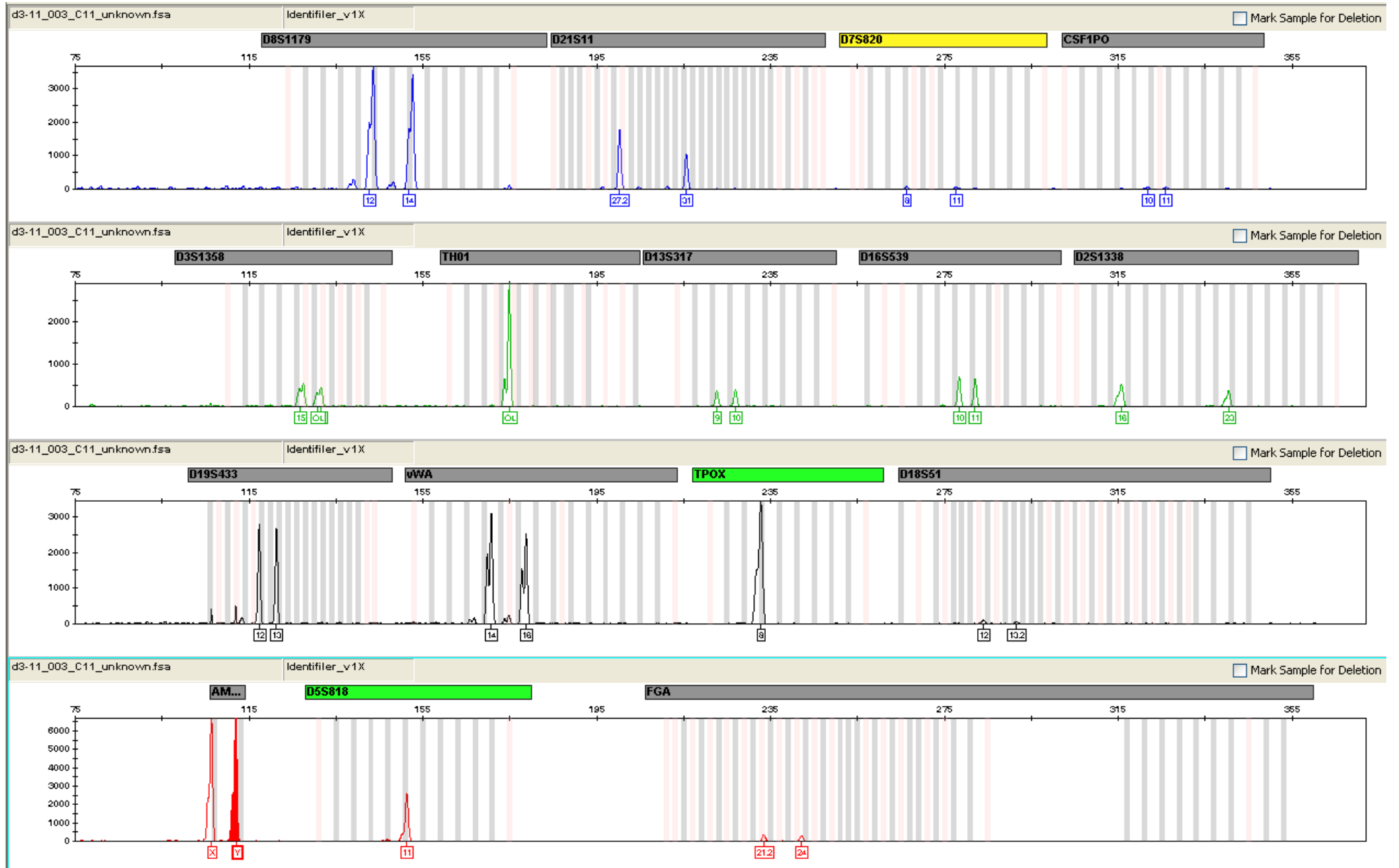
	D8S1179	D21S11	D7S820	CSF1PO	D3S1358	THO1	D13S317	D16S539	D2S1338	D19S433	vWA	TPOX	D18S51	Amelogenin	D5S818	FGA
SII/1	12-13	28,2-32			14-16	9-9	12-13	8-8		13-14	15-18	8-8		XY	10-13	
SII/2	13-14	28,2-32			13-15	5-7	8-11			13,2-14,2	14-15	8-11		XY	12-12	
SII/3																
SII/4																
SII/5																
SII/6	12-13	29,2-31			16-16	7-8	12-13			12,2-14	13-15	8-11		XX	12-13	
SII/8	10-13	28,2-29,2			14-15	5-9	11-12			13-16	14-18	8-8		XY	9-11	22-22
SII/9																
SII/10																
SII/11																
SII/12																
SII/13	11-11	29,2-32	10-12	11-12	13-16	7-9	8-12	11-11	17-19	14-15	15-16	7-7	13-14,2	XX	11-12	26-27
SII/14	13-14	27-28	7-9	11-12	13-16	5-9,3	8-9	10-12	17-20	11-12	15,2-18	7-10	16-17	XX	9-11	18-24
SII/15																
SII/17																
SII/18	12-14	27-28,2	8-10	11-11	16-18	7-9	8-11	8-12	17-23	12,2-12,2	17-17	7-7	14,2-16	XX	11-13	20-20
SII/19	9-12	29,2-32	8-11	10-12	17-17	7-8	8-13	8-12	17-18	12-12,2	16-19	7-10	13-17	XY	10-12	19-23
SII/20	9-15	30,2-32			15-16	6-9				11-15	13-13			XX	12-12	
SII/21	11-15	31-32			15-17	5-5	11-11	10-10		13-13,2	13-17	8-10		XX	13-13	
SII/22	13-14	27-32	10-11	12-12	17-17	6-6	12-12	10-11	22-23	12-15	18-20	7-10	13-23,2	XY	11-12	17-24
SII/23	13-14	24,2-31	11-12	10-11	14-14	7,3-7,3	9-11	10-11	18-18	12-12	16-18,2	7-10	16-18	XY	10-12	22-23
SII/24	11-13	29,2-31	10-10		16,2-17,2	6-9	11-11			12-12	13-14	8-8		XY	11-12	25-31,2
SII/25																
SII/26																



Resim 4.4. Yakılmış örnekler için kontrol ağız içi sürüntü örneklerine ait bir elektroferogram görüntüsü

Tablo 4.9. Deniz suyunda bekletilmiş diş örneklerine ait STR profili

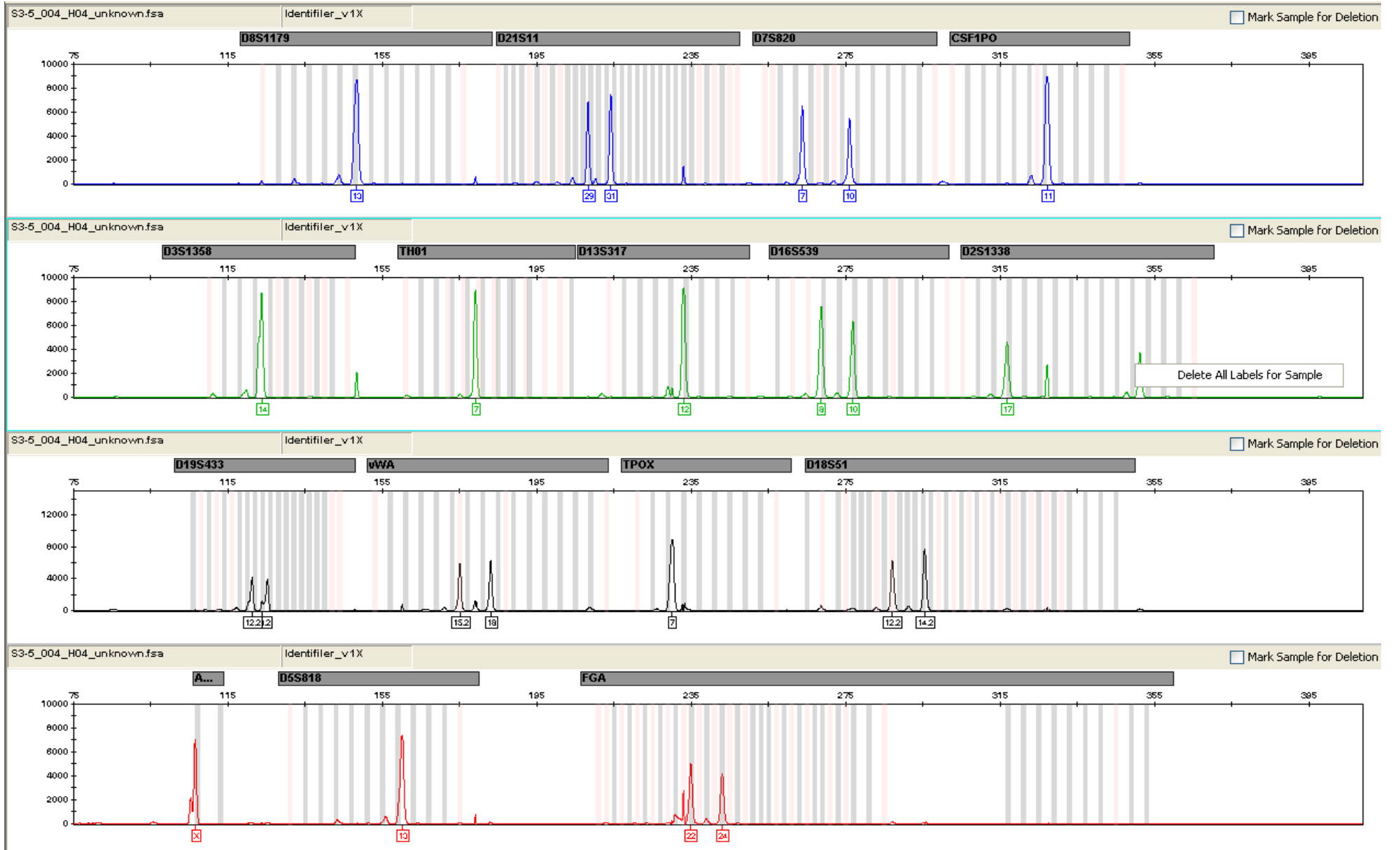
	D8S119	D21S11	D7S820	CSF1PO	D3S1358	TH01	D13S317	D16S539	D2S1338	D19S433	vWA	TPOX	D18S51	Amelogenin	D5S818	FGA
DIII/1	12-13	31-31	6-12	10-11	15,2-17,2	7,3-8,3	9-11	7-10	20-24	12-14	14-17	7-11	16-17	XY	11-11	23-24
DIII/2	10-11															
DIII/3	10-14	30-30	10-12	10-10	16-18	6-6	9-12	10-11	19-25	14-14	16-19	8-8	11-20	XY	11-13	22-22
DIII/4	11-12				15-15	8-9				12,2-14,2	17-17			XY	11-11	
DIII/5		34,2-34,2			15-15						14-15			XY		
DIII/6																
DIII/8	10-13	27-27	9-10	8-11	13-13		11-11							XY		30,2-31,2
DIII/9																
DIII/10	8-12		10-13				12-12			14-14,2		11-11		XY	10-11	
DIII/11	12-14	27,2-31	8-11	10-11			9-10		16-20	12-13	14-16	8-	12-13,2	XY	11-13	21,2-24
DIII/12																
DIII/13																
DIII/14	13-14	28-28	7-9,2	11-12	13-16,2	5,3-9,3	8-9	10-12	17-20	14-15,2	15,2-15,2	7-7	15,2-17	XX	9-11	24-24
DIII/15	12-12	29,2-30,2	7-8	10-12	16-17,2	7-7	11-12	9-10	17-20	12-13	17-18	7-7	13,2-17	XY	11-11	20-23
DIII/16	12-13	27-27	10-10	12-12	13-16	7-7	12-12	11-11	18-18	12-15	15-16	10-10	15,2-21	XY	11-12	19-22
DIII/17	12-12	29,2-32	8-9	11-11	16-17	9-9	9-11	8-11	17-24	14-14	15-17	7-10	11-13,2	XX	11-13	23-23
DIII/19	12-13	27-27	7-11	10-12	15-16	5-8	11-11	7-11	17-21	14-16	17-18	9-10	12,2-13,2	XX	12-12	21-22
DIII/22	11-11	28-30	9-10	10-14	13-14	7-7	12-14	10-12	19-20	12-14,2	16-17	7-11	13,2-20	XX	9-12	19-25
DIII/23	12-12	30,2-31,2	9-10	10-12	15-16	7-9	12-12	9-10	24-25	13-15,2	14-17	7-7	13,2-14,2	XY	11-11	21-24
DIII/24	12-14	31,2-31,2	7-10	10-11	13-15	5-7	8-11	8-10	20-20	11-13	18-18	7-7	12-19	XY	13-14	21-23
DIII/25	12-17	29,2-29,2	7-10	12-13	14-16	8-9	9-12	10-12	16-20	12-12	16-18	10-11	12-21	XX	13-14	21-23



Resim 4.5. Deniz suyunda bekletilmiş diş örneklerine ait bir elektroferogram

Tablo 4.10. Deniz suyunda bekletilmiş diş örneklerine ait kontrol ağız içi sürüntü örneklerine ait STR profili

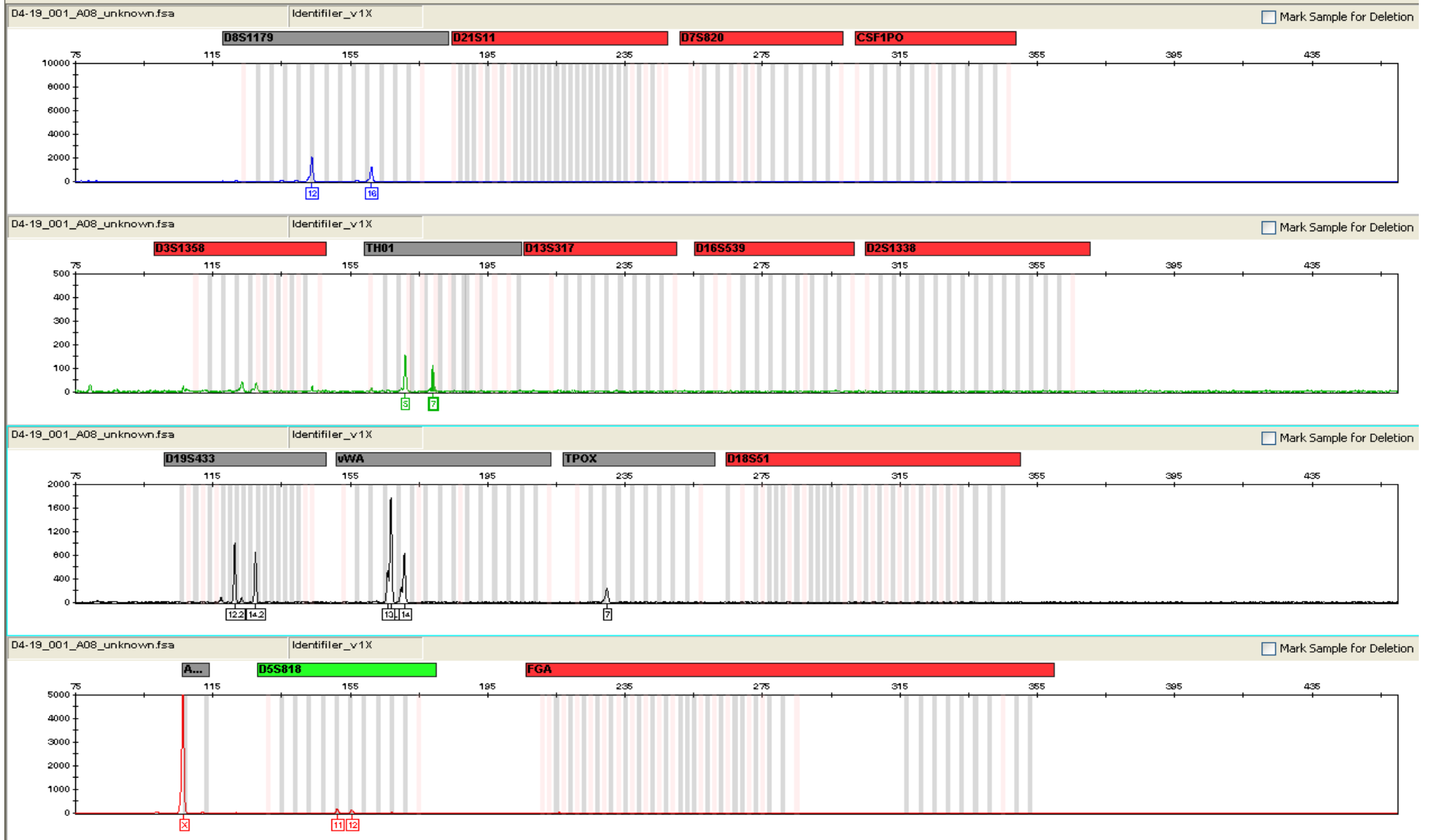
	D8S1179	D21S11	D7S820	CSF1PO	D3S1358	TH01	D13S317	D16S539	D2S1338	D19S433	vWA	TPOX	D18S51	Amelogenin	D5S818	FGA
SIII/1	12-13	31-32	6-12	10-11	11,2-17,2	7,3-8,3	9-11	7-10	20-24	12-14	14-17	7-11	16-17	XY	11-11	23-24
SIII/2	13-14	28,2-32			13-15	5-7	8-13	13-13		13,3-14	14-15	8-11		XY	12-12	
SIII/3	10-14	29-31	7-10	10-11	13-14	6-7	11-12	8-10	17-25	12,2-13,2	15,2-18	7-8	12,2-14,2	XX	11-13	22-24
SIII/4	11-12	30,2-32		7-14	15-15	8-9				12,2-14,2	17-17			XY	11-13	22-22
SIII/5	13-14	34,2-34,2			15-15					12,2-13,2	14-15			XY	11-12	
SIII/6																
SIII/8	10-13	27-27	9-10	8-11	13-13		11-11							XY		30,2-31,2
SIII/9																
SIII/10	8-12	29,2-30	10-13	8-10	15-16	5-7	12-12			14-14,2	13-16	11-11	10-17	XY	10-11	
SIII/11	9-11	29,2-31,2			14-14	9-9				11-12	15-16			XY	10-13	25-25
SIII/12	13-13	28-31,2	11-13	8-8						11-11,2	13-17			XX	11-12	
SIII/13	8-12	26-27	10-11		14-15									XX		
SIII/14	13-14	28-28	7-9,2	11-12	13-16,2	5,3-9,3	8-9	10-12	17-20	14-15,2	15,2-15,2	7-7	15,2-17	XX	9-11	24-24
SIII/15	12-12	29,2-30,2	7-8	10-12	16-17,2	7-7	11-12	9-10	17-20	12-13	17-18	7-7	13,2-17	XY	11-11	20-23
SIII/16	12-13	27-27	10-10	12-12	13-16	7-7	12-12	11-11	18-18	12-15	15-16	10-10	15,2-21	XY	11-12	19-22
SIII/17	12-12	29,2-30,2	8-9	11-11	16-17	9-9	9-11	8-11	17-24	14-14	15-17	7-10	11-13,2	XX	11-13	23-23
SIII/19	12-13	27-27	7-11	10-12	15-16	5-8	11-11	7-11	17-21	14-16	17-18	9-10	12,2-13,2	XX	12-12	21-22
SIII/22	11-11	28-29,2	9-10	10-14	13-14	7-7	12-14	10-12	19-20	12-14	16-17	7-11	13-20	XX	9-12	19-25
SIII/23	12-12	30,2-31,2	9-10	10-12	15-16	7-9	12-12	9-10	24-25	13-15,2	14-17	7-7	13,2-14,2	XY	11-11	21-24
SIII/24	12-14	31,2-31,2	7-10	10-11	13-15	5-7	8-11	8-10	20-20	11-13	18-18	7-7	12-19	XY	11-11	20-23
SIII/25	12-17	29,2-29,2	7-10	12-13	14-16	8-9	9-12	10-12	16-20	12-12	16-18	10-11	12-21	XX	13-14	21-23



Resim 4.6. Deniz suyunda bekletilmiş örnekler için kontrol ağız içi sürüntü örneklerine ait bir elektroferogram görüntüsü

Tablo 4.11. Toprakta gömülü halde bekletilmiş diş örneklerine ait STR profili

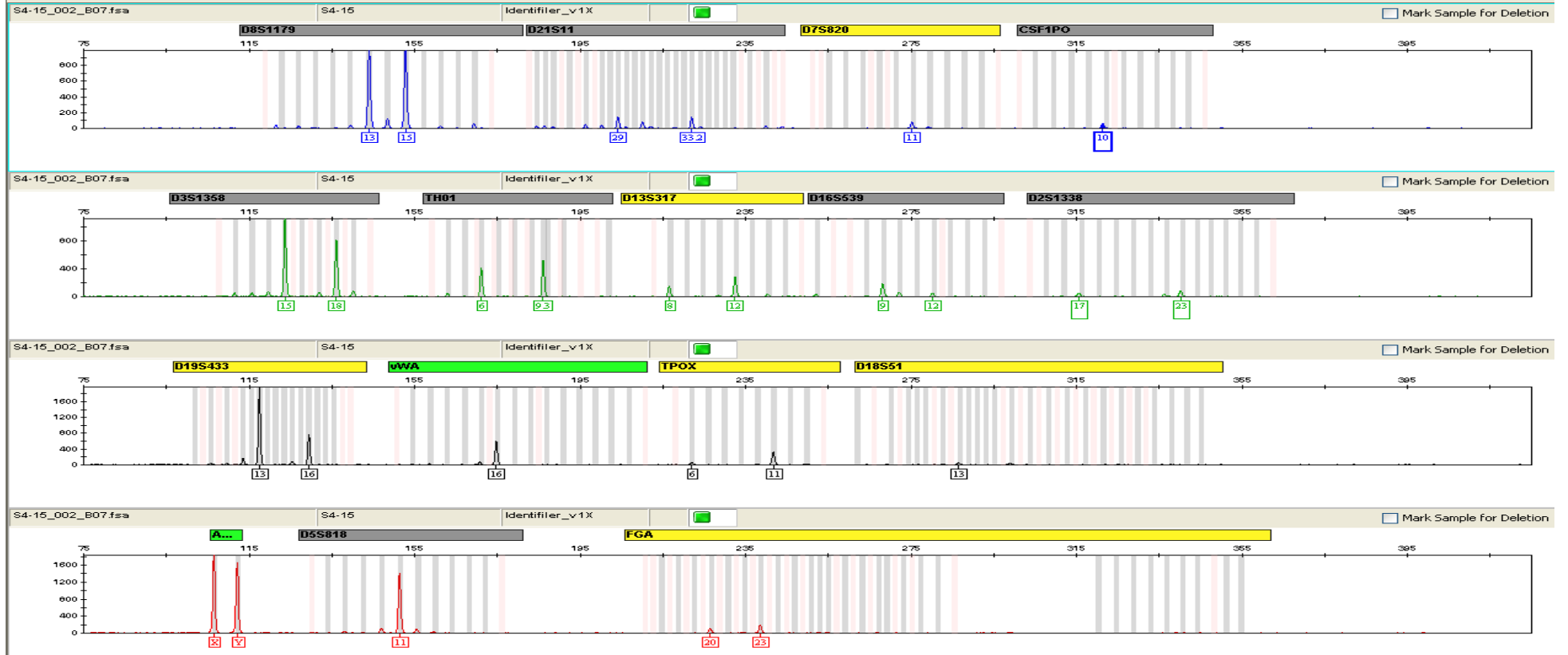
	D8S1179	D21S11	D7S820	CSF1PO	D3S1358	THO1	D13S317	D16S539	D2S1338	D19S433	vWA	TPOX	D18S51	Amelogenin	D5S818	FGA
DIV/1																
DIV/2	13-14	29,2-32	9-10	10-11	14-15	9-9	10-12	11-12	17-20	14-15,2	17-18	7-7	12,2-12,2	XX	9-13	19-22
DIV/3					12-?									XX		
DIV/5	11-12				15-18	6-6				14-15	16-18			XY	11-12	
DIV/8																
DIV/9	13-18	25-28	6-11	11-13	14-16	4-6	10-10	14-14	19-20	14-15	14-20	9-11	10-10	XY	10-11	17-23
DIV/10																
DIV/11	12-14	27-28	9-10	12-12	15-16	6-9,3	11-12	8-11	17-18	12,2-13,2	18-18	7-7	13,2-13,2	XY	12-12	24-25
DIV/12	14-15	28,2-31,2	9-10	10-12	14-15	8-9	8-13	8-8	18-19	12-13	15-16	7-10	10,2-13,2	XX	12-12	23-23
DIV/13	12-14	29,2-29,2	9,2-9,2	10-11	14-16	6-8	11-11	10-10	16-24	13,2-14	16-17	7-10	12-13	XY	12-12	22-22
DIV/14																
DIV/15	13-15	29-33,2	11-11	9-9	15-18	6-9,3	8-12	9-12	17-23	13-16	16-16	6-11	13-16	XX	11-11	20-23
DIV/16	9-12	28-31,2			13-?		9-13			13-13				XY		23-23
DIV/17																
DIV/18	11-16	28,2-31,2	10-13	7-11	13-13	6-10	8-13	13-13	15-15	13-14	12-13	8-8	13-17	XX	8-16	18-22
DIV/19	12-16	32,2-33,2			14-15	5*7				12,2-14,2	13-14	8-8		XX	11-12	
DIV/20	15-16	28-30,2			16-17	6-?				12-12	14-15	8-9		XY	11-12	
DIV/21	12-13									12-13				XX	10-12	
DIV/22																
DIV/23	15-15	28-33	9-11	9-12	16-18	6-9	8-12	8-11	18-24	12-15	14-15	8-12	14-15	XX	12-14	24-25
DIV/25	9-9	30,2-32	13-?	11-12	14-14	6-6	8-11	11-11			15-15	9-9	14,2-?	XY	8-10	



Resim 4.7. Toprakta gömülü halde beklemiş diş örneklerine ait bir elektroferogram

Tablo 4.12. Toprakta gömülü halde bekletilmiş diş örneklerine ait kontrol ağız içi sürüntü örneklerine ait STR Profili

	D8S1179	D21S11	D7S820	CSF1PO	D3S1358	TH01	D13S317	D16S539	D2S1338	D19S433	vWA	TPOX	D18S51	Amelogenin	D5S818	FGA
SIV/1																
SIV/2	13-14	29,2-32	9-10	10-11	14-15	9-9	10-12	11-12	17-20	14-15,2	17-18	7-7	12,2-12,2	XX	9-13	19-22
SIV/3	11-12	29,2-32			15-15	8-9	12-13	8-11	18-24	13-15	17-17	9-10		XY	11-11	
SIV/5										12,2-14	13-13			XX		
SIV/7	12-15	27-31	10-12	12-14	15-18	8-11	11-12	11-11	16-19	12-15	16-17	11-11	13-25	XY	11-12	21-22
SIV/8	10-10	29-32,2	11-11	11-12	12-15	6-9	11-12	12-12	18-23	13-16	15-16	8-8	16-17	XX	12-13	20-21
SIV/9	13-18	25-28	6-11	11-13	14-16	4-6	10-10	14-14	19-20	14-15	14-20	9-11	10-10	XY	10-11	17-23
SIV/10	13-16	30-30	8-12	10-12	14-14	6-6	11-11	10-13	23-25	13-14	17-18	11-11	12-14	XY	12-13	21-22
SIV/11	12-14	27-28	9-10	12-12	15-16	6-9,3	11-12	8-11	17-18	12,2-13,2	18-18	7-7	13,2-13,2	XY	12-12	24-25
SIV/12	14-15	28,2-31,2	9-10	10-12	14-15	8-9	8-13	8-8	18-19	12-13	15-16	7-10	10,2-13,2	XX	12-12	23-23
SIV/13	12-14	29,2-29,2	9,2-9,2	10-11	14-16	6-8	11-11	10-10	16-24	13,2-14	16-17	7-10	12-13	XY	12-12	22-22
SIV/14	12-14	28-28	7-12	9-11	12-14	9,3-9,3	13-13	8-12	21-21		12-22	12-12	16-16	XX	12-	23-25
SIV/15	13-15	29-33,2	11-11	9-9	15-18	6-9,3	8-12	9-12	17-23	13-16	16-16	6-11	13-16	XY	11-	20-23
SIV/16	9-12	25-27	10-13	6-12	13-16	6-10	9-13	10-11	15-21	9-14	14-19	7-12	10-15	XY	7-9	24-26
SIV/17	11-11	31,2-32,2	10-10	11-11	16-18	7-9,3	8-9	10-13	17-23	14-14,2	16-18	8-8	13-16	XY	11-12	20-23
SIV/18	11-16	28,2-31,2	10-13	7-11	13-13	6-10	8-13	13-13	15-15	13-14	12-13	8-8	13-17	XX	8-16	18-22
SIV/19	13-17	32,2-33,2	8-12	12-12	15-16	6-8	10-11	10-12	19-19	14-15,2	14-15	8-8	14-17	XX	11-12	21-22
SIV/20	15-16	28-29	8-9	10-13	16-17	6-8	11-11	11-12	19-25	12-12	14-15	9-11		XY	11-12	22-23
SIV/21	13-14	29-31,2	9-10	12-14	16-17	6-6	12-12	11-13	23-26	13-14	15-16	8-10	11-11	XX	10-11	25-25
SIV/22	13-16	30-31,2	8-13	11-12	15-17	6-7	12-12	11-14	17-20	13-13,2	17-18	8-11	14-14	XY	10-12	20-24
SIV/23	15-15	28-33	9-11	9-12	16-18	6-9	8-12	8-11	18-24	12-15	14-15	8-12	14-15	XX	12-14	24-25
SIV/24	12-13	24-28,2	10-12	10-11	16-17	7-9	12-14	12-12	16-17	14-15	17-18	8-8	13-19	XX	7-8	21-21



Resim 4.8. Toprakta bekletilmiş örnekler için kontrol ağız içi sürüntü örneklerine ait bir elektroferogram görüntüsü

Tüm diř ve ađız içi sűrűntű örnekleri örneklerine ait STR profillerini gösteren tablolar yukarıda gösterilmiřtir. Aynı kiřilere ait diř ve ađız içi sűrűntű örnekleri örneklerinden elde edilen STR profilleri Matlab Version 7.6.0.324 programında karřılařtırılmıř ve bařarı oranları hesaplanmıřtır.

Kullanılan forműl ařađıda belirtildiđi řekildedir:

$$\text{başarı} = \left[\frac{1}{p} \sum_{k=1}^p \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^n \text{eq}(D_{kij}, S_{kij}) \right] \times 100$$

D: Diř (lűlen)

S: Ađız içi sűrűntű örnekleri (gerçek)

p : rnek sayısı

n : lokus sayısı

m : 1 lokustaki alel sayısı

D_{ij} : Diş örneğinin i. lokusundaki j. aleli

S_{ij} : Ađız içi sűrűntű örnekleri örneđinin i. lokusundaki j. aleli

Hesaplanan başarı oranları aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

Tablo 4.13. STR profillerinin başarı oranları

Örnekler	Tam STR Profili		Tam Olmayan STR Profili		Hiç Çıkmayan STR Profili		Başarı Oranı
	Diş	Ağız içi sürüntü örnekleri	Diş	Ağız içi sürüntü örnekleri	Diş	Ağız içi sürüntü örnekleri	
I (taze örnekler)	(10)/(21)	(8)/(21)	(8)/(21)	(6)/(21)	(3)/(21)	(7)/(21)	% 62,5
II(yanmış örnekler)	(5)/(24)	(6)/(24)	(15)/(24)	(7)/(24)	(4)/(24)	(11)/(24)	% 18,75
III(deniz suyunda bek.)	(11)/(21)	(11)/(21)	(6)/(21)	(8)/(21)	(4)/(21)	(2)/(21)	% 37,5
IV(toprakta bekl.)	(8)/(22)	(17)/(22)	(7)/(22)	(4)/(22)	(7)/(22)	(1)/(22)	% 43,75

TARTIŞMA ve SONUÇ

Günümüzde bir tek saç teli, bir damla tükürük, sperm ya da kan, kemik veya biyolojik bir doku parçasından yararlanarak bir kimsenin genetik kimliğini belirlemek mümkün olmaktadır.

Bulunan insan kalıntılarının kimliklendirilmesi, bir soruşturma için, sigorta amaçlı veya miras paylaşımı açısından oldukça kritiktir. Patlama veya uçak kazası gibi durumlarda insan kalıntıları parçalanmış ve hatta birbirine karışmış olabilmektedir. Bu nedenle, parmak izi veya postmortem ve antemortem diş kayıtlarının karşılaştırılması gibi geleneksel yöntemlerle kimlik tespiti çok zor veya imkansızdır. Sonuç olarak adli bilimciler sık sık DNA analizi yöntemini kullanmaktadırlar. Dişler, dil, çene ve diş minesinin korunması sayesinde değerli bir DNA kaynağı olarak kabul edilmiştir. Yapısındaki diş minesi sayesinde insan vücudundaki en sert doku olması nedeniyle son derece zorlu şartlar altında bile eksiksiz bulunabilir ve bu yapısı rutubet, yüksek sıcaklık, bakteri ve mantar aktiviteleri gibi kötü koşullarda DNA degradasyonuna karşı direnç sağlar (Gaytmenn ve Sweet 2003, Ricault ve ark. 2005).

Bu çalışmada 18-65 yaşları arasında aydınlatılmış onamları alınan 88 kişiden diş ve ağız içi sürüntü örnekleri toplandı. İ.Ü. Adli Tıp Enstitüsü öğrenci laboratuvarında toplanan tüm örneklerden elde edilen profillerdeki başarı oranı Matlab Version 7.6.0.324 programında hesaplandı.

Soruşturma amaçlı adli kanıt örneklerinden DNA izolasyonu, örnek türlerinin çeşitliliği, çevresel koşullara bağlı bozulma, PCR inhibitörleri yüzünden kontaminasyon veya kısıtlı miktardaki başlangıç materyali gibi nedenlerle zorlu bir süreçtir (Stray ve ark 2009).

Çalışmamızda kullanmış olduğumuz ticari DNA izolasyon kitleri (Qiagen Mikro Kit DNA İzolasyon Kiti ve Blood Genomic DNA Extraction Kit) oldukça iyi sonuçlar vermiş olup, kolay ve çabuk olarak DNA elde edilmesini sağladığı için tercih edilmiştir. Chelex çekitleme yöntemi sert bir dokuya sahip olan diş örneklerinde çalışmamızdan verimli sonuç alamama riskinden dolayı, fenol kloroform isoamil alkol yöntemi ise çok uzun zaman aldığından ve kontaminasyon riskinin fazla olması, kanserojen olup, çalışanların sağlığını risk etmesi gibi dezavantajlar nedeniyle çalışmamızda tercih edilmemiştir.

Yapılan izolasyon çalışmaları sonucunda tüm örneklerden elde edilen DNA miktarları Tablo 4.1, Tablo 4.2, Tablo 4.3, ve Tablo 4.4'te gösterilmiştir.

Tablo 4.1 Taze diş örneklerine ait DNA miktarlarını göstermektedir. Elde edilen DNA miktarlarına bakıldığında en düşük 0,11 µg/µl, en yüksek 20,8 µg/µl olarak bulunmuştur. Pötsch ve ark (1992) tarafından yapılan bir çalışmada bir diş örneğinden elde edilen toplam DNA miktarı 6 µg/ml ile 50 µg/ml arasında değişim göstermiştir. Bu da bizim çalışmamızla uyum göstermektedir. Diş pulpasından izole edilen DNA sonuçları ile kan örneklerinden veya karaciğer dokusundan elde edilmiş sonuçlar karşılaştırıldığında ise herhangi bir fark görülmemiştir (Pötsch ve ark. 1992).

İnsan kalıntılarında kişisel bilgilerin alınmasını sınırlayan yangın ve yüksek sıcaklığa maruz kalma gibi başlıca dış kaynaklı faktörler bulunmaktadır. Ciddi derecede yanmış insan kalıntılarında genetik parmakizi ile kimliklendirme adli rutin işlerin yaygın bir görevidir. Aşırı yangın etkisinin olduğu durumlarda DNA analizi için sadece sert dokular (kemik, diş) kullanılabilir (Schwark ve ark 2011). Diş kimyasal ve fiziksel direnci nispeten yüksek derecede olması nedeniyle, genetik materyali kurtarma imkanı sunmuş ve adli vakalarda önemli bir kanıt haline gelmiştir.

Tablo 4.2 yakılmış diş örneklerine ait DNA miktarlarını göstermektedir. Elde edilen DNA miktarları 0, 10 ila 0, 28 µg/µl arasında bulunmuştur. Toplam 24 yanmış diş örneğinin 11 tanesinde (%44) bulunan DNA ölçüm miktarı sonucu 0,05 ng/ml'nin altında tespit edilmiştir. Silva ve arkadaşlarının (2011) yaptıkları çalışmada da elde edilen sonuçlar çalışmamızla benzerlik göstermiştir. DNA izolasyon ve analiz protokollerinin standardizasyonuna katkıda bulunmak amacıyla yaptıkları çalışmada, yanmış insan simülasyonu yapmak üzere diş örneklerini yüksek ısıya maruz bırakmış ve elde edilen DNA örneklerini bu şekilde değerlendirmişlerdir. Kullanılacak materyali doğrudan 600, 800 ve 1000 C° gibi yüksek sıcaklıklara maruz bırakmak DNA'nın amplifikasyonu için başarılı bir sonuç vermemiştir. DNA konsantrasyonu, daha sonra analiz için uygun olmasına rağmen, bu yüksek ısıya maruz bırakılan dişlerden bir PCR ürünü elde etmek mümkün olmamıştır (Silva ve ark 2011).

Remualda da yaptığı çalışmada (2004) diş örneklerini 200, 400, 500 C° ve 600 C° de 60 dakika maruz bırakarak 3 farklı izolasyon yöntemini karşılaştırmıştır. 200 ve 400 C° lik ısılarda örneklerin %50 lik kısmında genomic DNA izolasyonunda başarı sağlarken, daha yüksek sıcaklıklarda sadece tek bir yöntemle mtDNA izolasyonunda başarı gözlenmiştir (Remualdo 2004).

Tablo 4.3'te deniz suyunda bekletilmiş diş örneklerinden izole edilen DNA miktarlarını göstermektedir. Tabloda görüldüğü üzere en düşük 0,11 µg/µl ve en yüksek 0,26 µg/µl DNA elde edilmiştir.

Tablo 4.4'te ise toprakta gömülü diş örneklerinden izole edilen DNA miktarları görülmektedir. Bu tabloda en düşük DNA miktarı 0,11 µg/µl, en yüksek 1,16 µg/µl olarak gözlenmiştir.

Dişlerin toprakta gömülü olarak bekletilmesindeki amaç antik kalıntılarda bulunan diş örneklerinden kimliklendirme yapılmasına dair bir benzetim yapılmasıdır. Ancak çalışmamızdaki süre engeli nedeniyle diş örnekleri maksimum üç sene toprakta gömülü bekletilmişlerdir. Alakoç ve Aka (2009) da yaptıkları çalışmada çeşitli kazılardan elde edilmiş antik diş örnekleri üzerinde "orthrograte entrance" tekniğini kullanarak çalışmış ve toplam 72 örnekten 1,84 ng/µl minimum ve 154,79 ng/µl miktarda DNA elde etmişlerdir. (Alakoç ve Aka 2009).

Tüm tablolar incelendiğinde diş örneklerine ait bazı sonuçların >0,5 ng/ml ile belirtildiği görülmektedir. DNA miktarının bu kadar düşük olarak hesaplanması diş örneğinin çürüklü, kanal tedavili ve dolgu maddeli yapıya sahip olmasına bağlanmaktadır.

Aynı kaynaktan genellikle sağlıklı ve bozulmamış, çürüklü ve endodontik kök dolgulu olmak üzere farklı kalitede dişler bulunmaktadır. Bir endodontik süreçte pulpa dokusu ve dentinin iç tabakaları (nükleer DNA'nın esas kaynağı) çıkarılarak ve yerine genellikle çevre dokular ile uyumlu termoplastik endodontik dolgu maddesi doldurulmaktadır. Böylece dentinal tübüllerdeki odontoblastların devamlılığı kötü koşullara karşı sağlanmaktadır. Corte-Real ve arkadaşlarının (2008) endodontik dişler ile yaptıkları çalışmada endodontik tedavi görmüş dişlerde de STR profilleri elde edilebileceğini gösterdi. Buna göre dişler kimliklendirme olaylarında olağanüstü örneklerdir (Corte-Real ve ark 2008).

Çalışmamızda diş örnekleri, DNA izolasyonları yapıldıktan sonra AmpFISTR Identifiler™ PCR Amplification kit kullanılarak 16 STR lokusu PCR ile çoğaltılmıştır. Ancak örneklerimizin çoğu bekletilmiş örneklerden oluştuğu için inhibitörler ve yabancı DNA olasılıklarına karşı saflaştırma işlemi yapılmıştır. Bu amaçla Amicon Ultra-4 Santrifüj Filtre

Cihazı kullanılmıştır. Bizim örneklerimiz gibi eski ve bozulmuş örneklerde DNA'nın analizinde amplifikasyon sonuçlarını optimize etmek ve inhibitör aktivitesini azaltmak için ek bir saflaştırma basamağına kesinlikle ihtiyaç duyulmaktadır. Çünkü dişler aslında inhibitörlere karşı geçilemez bir sığınak değildir ve diş özündeki DNA'nın yüksek bir degradasyonu inhibisyona sebep olabilir (Ricaud ve ark 2005).

Saflaştırma işleminin ardından PCR ürünleri ABI 3130 Kapiler Elektroforez cihazında yürütülmüş olup elde edilen pikler analiz edildiğinde ortaya çıkan STR profilleri Tablo 4.5, Tablo 4.6, Tablo 4.7, Tablo 4.8, Tablo 4.9, Tablo 4.10, Tablo 4.11 ve Tablo 4.12'de verilmiştir.

Tüm bu tablolardaki diş örneklerinden elde edilen STR profilleri ile kontrol ağız içi sürüntü örneklerinden elde edilen profiller karşılaştırılarak Matlab Version 7.6.0.324 programında Bulgular bölümünde verilen formül kullanılarak yapılan hesaplamalar sonucunda her bir örnek kümesi için başarı oranları tespit edilmiştir. Matlab Version 7.6.0.324 programında yapılan hesaplamalarda taze örnekler, yanmış örnekler, deniz suyu ve toprakta bekletilmiş diş örnekleri olmak üzere 4 grup oluşturulmuş ve her bir gruptaki örnekler ile bu örneklere ait kontrol ağız içi sürüntü örnekleri arasındaki örtüşme oranı belirlenmiştir. Elde edilen başarı oranları Tablo 4.13. te verilmiştir.

Taze diş örneklerinden toplam 21 örnekten 10 tanesinde 16 STR lokusu için tam profil, 8 tanesinde tam olmayan profil elde edilirken 3 tanesinde hiçbir profil elde edilememiştir. Diş örneklerine ait profillerin kontrol ağız içi sürüntü örneklerine ait profiller ile uyum oranı %62,5 olarak hesaplanmıştır.

Yanmış diş örneklerine bakıldığında toplam 24 örnekten 5 tanesinde tam STR profili, 15 tanesinde tam olmayan profil elde edilmiş ve 4 tanesinde hiç profil elde edilememiştir. Ağız içi sürüntü örnekleriyle uyum oranı ise %18,75 olarak bulunmuştur.

Çalışmalarında yine yanmış diş örneklerini kullanan Schwark ve arkadaşları (2011) yangın kaynaklı farklı tahribat aşamaları gösteren (iyi korunmuş, yarı yanmış, siyah yanık, mavi-gri yanık ve mavi-gri-beyaz yanık) insan kemiklerinden STR analizi ile gerçek DNA profillerinin elde edilebilir olup olmadığını araştırmışlardır. Yangın kazalarından hayatını kaybetmiş 13 bireyden temin edilen 71 yanmış kemik parçasından DNA ekstre etmişler ve elde edilen

genetik desenleri şahıslara ait genetik desen ile karşılaştırmışlardır. Sonuçlar, iyi korunmuş ve yarı yanmış kemiklerde DNA analizi ile kimliklendirmenin güvenilir ve tekrarlanabilir olmasının mümkün olduğunu göstermiş, siyah yanık kemiklerde nükleer DNA bozulmuş halde, bazılarında ise hiç bulunamamış ve diğer bir seçenek olarak mitokondriyel DNA analizi tercih edilmiştir. En son aşamalarda ise herhangi bir güvenilir sonuçla karşılaşmamışlardır (Schwark ve ark. 2011).

Benzer şekilde çalışmalarında yanmış örnekler üzerinde çalışan Malaver ve arkadaşları (2003) farklı diş dokularını (pulpa, dentin ve sement) DNA kaynağı olarak adli analizlerde kullanmak üzere değerlendirme yapmışlar. Ancak çalışmalarında mtDNA yı kullanmışlardır. Toplamda, yanmış kimliği belirsiz cesetlerden alınan 20 adet diş ile çalışmış ve dişlerin pulpa, dentin ve sement kısmını yüksek hızlı parçalayıcı cihazlarla ayırmışlardır. DNA mineralize dokulardan EDTA ile kısa bir demineralizasyon işleminin ardından izole edilerek DNA miktarının tespiti D17Z1 lokusu için kullanılan primat ve insana özel bir satellit DNA olan D17Z1 probu kullanılarak dot-blot hibridizasyon işlemi ile gerçekleştirilmiştir. PCR (mitokondriyel DNA 'nın HV2 bölgesi) ve jel elektroforezi sonunda pulpa kısmı güçlü amplifikasyon sinyali vermiş, dentin ve sement kısmı için sinyaller ise sement içindeki periodontal ligament hücrelerinin varlığından dolayı birbiriyle çok benzerlik göstermiştir. Sonuçta pulpa bölgesinde mitokondriyel DNA daki HV2 bölgesinin amplifikasyon sonuçları dentin ve sement tabakasının hücreler için koruyucu faktör üstlendiği ve DNA yı koruduğu gözlenmiştir. Bu çalışma yanmış diş örneklerinde mtDNA nın daha güvenilir ve verimli sonuçlar verdiğini göstermiştir.

Çalışmamızda suda bekletilmiş diş örneklerinden elde edilen profillere bakıldığında toplam 21 örnekten 11 tanesinde 16 STR lokusuna ait tam profil, 6 tanesinde tam olmayan profil gözlenmiş ve 4 tanesinde hiçbir sonuç alınamamıştır. Kontrol ağız içi sürüntü örnekleri örneklerinden elde edilen profiller ile uyumu hesaplandığında %37,5 başarı elde edildiği gözlenmiştir.

Toprakta gömülü örneklerde 22 örnekten 8 tanesinden tam STR profili, 7 tane tam olmayan profil gözlenmiş olup 7 tanesinden hiçbir sonuç alınamamıştır. Kontrol ağız içi sürüntü örnekleriyle karşılaştırıldığında ise %43,75 oranda başarılı sonuç elde edildiği gözlenmiştir.

Çalışmamıza büyük oranda benzerlik gösteren bir çalışma olan Corte-Real ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada toplamda 30 diş örneği kullanılmış ve bu örnekler 5 değişik (tatlı suda bekletme, deniz suyunda bekletme, yakma, toprağa gömme ve oda sıcaklığında bekletme) çevresel koşula maruz bırakılmıştır. Sonuçta uzun süre bekletilen örneklerde STR profillerine ulaşamamış ancak diş örneklerinde mtDNA ile çalışmanın nükleer DNA ile çalışmaya göre daha iyi sonuçlar verdiğini tespit etmişlerdir (Corte-Real ve ark 2006).

Gleisner ve arkadaşlarının (2004) mtDNA ile yaptıkları çalışmada da dentin tozu örnekleri kullanılmasına olanak sağlayan teknik ile mtDNA dizileri elde etme yeteneği diş tipi, kullanılan dentin toz miktarı, kalıntıların bulunduğu çevresel koşullar ve dişlerin tedavi görüp görmediği gibi birçok değişken açısından değerlendirildiğinde ilk sonuçlar, kullanılabilir mtDNA dizileri kazanmakta başarılı olmak için dişin bozulmamış durumda olmak zorunda olmadığını göstermiştir.

Yapılan laboratuvar çalışmalarında DNA profili için sadece DNA miktarı değil DNA'nın saflığı ve kalitesi önemlidir (Manjunath ve ark. 2011). DNA analizinde büyük avantaj sağlayan bol miktarda kaliteli DNA diş örneklerinden izole edilebilmektedir. Diş, diğer vücut kısımları ile karşılaştırıldığında mükemmel bir kaliteli DNA kaynağı sağlar ve tüm adli araştırmalarda kullanılması düşünülebilir.

Tilatta ve arkadaşları dişlerin ezilerek toz haline getirilmesi ve dişin dış yüzeyinin delinerek endodontic giriş ile pulpasının çıkarılması yoluyla elde edilen DNA miktarını ve profillerini karşılaştırmışlardır. Toz haline getirilmiş diş serisinde 32 örnekten 3 ünde tam profil (%9) elde edilirken 24 ünde (%75) hiç profil elde edilememiştir. Delgi işlemiyle pulpası çıkarılan grupta ise 32 örnekten 24 ünde tam profil elde edilerek %75 başarı sağlanmıştır (Tilatta ve ark. 2010).

Alakoç ve Aka da "orthrograte entrance" tekniğini kullanarak çalıştıkları 72 antik örnekten 58 tanesinde yani %80,1 oranında nükleer DNA amplifikasyon ürünleri elde etmişler ve kullandıkları teknik ile de antik diş örneklerinin morfolojik yapılarına da zarar vermemişlerdir. Bu iki çalışma ile diş örneklerinin maruz kaldığı çevresel faktörlerin yanı sıra diş örneklerinden DNA izole edilme aşamasında dişe uygulanan yöntemin de çok önemli olduğunu göstermektedir.

Yukarıdaki çalışmalara ilave olarak diğer literatürler (Pinchi ve ark. 2010) incelendiğinde çalışmamızda uygulanan diş örneklerinin toz haline getirme yönteminin çalışmanın başarı oranını etkilediği düşünülmektedir. Dişin delinerek endodontik teknik ile pulpasının çıkarılarak bu şekilde DNA izole edilmesi çalışmamızın başarısı açısından daha etkili sonuçlar vereceği düşünülmeye rağmen eldeki cihaz ve aletler çalışmamızın yönünü belirlemiştir.

Çalışmamızın başarı oranını etkileyen nedenlerden bir diğerinin de kontrol ağız içi sürüntü örneklerinde bulunan eksik veya hiç çıkmayan STR profilleri olduğunu düşünmekteyiz. Bunun da dişlerle aynı anda toplanan ağız içi sürüntü örneklerinden bazılarının örnek sayısının çokluğu nedeniyle bir süre izolasyon için bekletilmesi ve elde edilen izolatların da kullanılan cihazlardaki arıza nedeniyle beklemesi sonucunda oluşan bozulmalardan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Ayrıca örneklerin doğru seçimi (çürüklü veya endodontik dolgulu olmaları gibi), kontaminasyona neden olmayacak şekilde doğru toplanması ve örneklerden DNA izolasyonu için doğru yöntemin seçilerek uygulanması gibi koşulların çalışmanın başarı oranı üzerinde etkili olduğu düşünülmektedir.

Sonuç olarak yaptığımız çalışma ve okunan literatürler ışığında adli bilimlerde çevresel etkenlere ve yanmaya maruz kalmış diş örneklerinin saklanma koşulları ve süresi her ne olursa olsun kimliklendirme amaçlı kullanılmasının mümkün olduğu görülmektedir.

ÖZET

Bir olay yerinden toplanan biyolojik deliller, suçlu, mağdur veya kazazedelerin kimliklendirmesinde büyük önem taşımaktadır. Kimliklendirme amaçlı biyolojik delil incelemesinde temel amaç DNA ya ulaşmaktır. DNA adli bilimlerde kimlik tespiti amacıyla kullanılan önemli bir parametredir.

Diş ise korunaklı yapısı sayesinde önemli bir DNA kaynağıdır ve özellikle yangın, patlama, uçak kazası, depremler gibi vücut parçalarının ağır tahribat gördüğü kitle felaketlerinde kimliklendirme açısından önemli bir rol oynamaktadır.

Diş örneklerinin yanmış, senelerce toprak veya deniz suyu altında beklemiş olması iyi bir DNA kaynağı olması niteliğini etkiler mi?

Bu soruya cevap bulmak amacıyla birçok diş hekiminden hastaların izni dahilinde toplam 88 diş örneği toplanmış, bu örneklerin bir kısmı yakma, deniz suyunda ve toprakta bekletme gibi çeşitli çevresel etkilere tabi tutularak, bir kısmı da taze olarak kullanılmıştır. Tüm diş örneklerinden gerekli sterilizasyon işlemlerinin ardından DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir.

Elde edilen DNA örneklerinin 16 STR lokusu PCR işlemi ile çoğaltılmıştır. Daha sonra PCR ürünleri kapiler elektroforez işlemine tabi tutulmuştur. Elde edilen elektroforegram pikleri 16 STR lokusuna göre analiz edilmiş ve STR profilleri oluşturulmuştur.

Tüm diş ve kontrol ağız içi sürüntü örneklerinden elde edilen STR profilleri karşılaştırılmıştır. Karşılaştırmalar sonucunda taze diş örneklerinin, kontrol ağız içi sürüntü örnekleri örnekleriyle uyum oranı %62,5 yanmış diş örneklerinde başarı oranı %18,75, suda beklemiş örneklerde %37,5 ve toprakta bekletilmiş örneklerde %43,75 olarak hesaplanmıştır.

Sonuç olarak, diş örnekleri iyi birer DNA kaynağıdır ve çeşitli çevresel faktörlere maruz kalsa da yapısı DNA için korunaklı bir yapıya sahip olduğundan adli bilimlerde kimliklendirme amaçlı kullanıma oldukça uygundur.

SUMMARY

The biological evidences obtained at a crime or accident scene are essential for identifying the criminal or the victim. The main aim of the biological evaluation is obtaining DNA. DNA is an important parameter for identification processes in forensic science.

Teeth are important sources of DNA due to their vigorous structure and play an important role for identification especially in mass disasters like fire, explosion, air crash or earthquake in which body parts are heavily damaged.

Are teeth still good sources of DNA even if they are burned, stayed underground or sea water for a long time? To find an answer for this question 88 teeth samples were collected from the dentists with the informed consent of the patients and they were exposed to effects such as burning, burying and leaving in sea water. A group was reserved as the control group. After the appropriate sterilization procedure, DNA isolation is performed in all samples.

STR 16 locus of the obtained DNA are multiplied by PCR. Then the PCR products are processed with capillary electrophoresis. The electropherogram peaks are analysed according to STR 16 locus and STR profiles are constructed.

The STR profiles derived from all groups are compared. The matching rate of the control swap samples was found as 62,5%, the matching rate of the burnt teeth samples were found as 18,75% and the matching rate of the buried teeth samples were found as 43,75%.

In conclusion, teeth samples are good sources of DNA and they are appropriate materials in the identification procedures performed in forensic units even if they are exposed to environmental factors.

KAYNAKLAR

Adler C.J, Haak W, Donlon D, Cooper A, (2011) .“Survival and Recovery of DNA From Ancient Teeth and Bones” *Journal of Archeological Science* 38 956-964.

Afşin H. (2001), Adli Diş Hekimliğinde Isırık İzleri ve Analizleri, Klinik Adli Tıp, cilt:1, s:31-46.

Afşin H, Günce E. M, (2002), Adli Diş Hekimliği Açısından Olay Yeri İncelemesi, Adli Tıp Dergisi Cilt 16, Sayı 24, Sayfa 94–106

Akar N. (1999), Klinik Moleküler Patoloji'ye Giriş (Genişletilmiş ikinci baskı). Ankara: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi An. Tıp A.Ş. Yayınları.

Akgüneş E. (2008), Adli Kimliklendirmede VNTR ile STR Sistemlerinin Ayrım Güçlerinin Karşılaştırılması. İ.Ü. Adli Tıp Enstitüsü Fen Bilimleri A.B.D. , Doktora Tezi, İstanbul.

Alakoç Y.D, Aka P.S, (2009), “Orthograde Entrance Technique to Recover DNA from Ancient Teeth Preserving the Physical Structure”. *Forensic Science International* 96-98.

Altaş V. (2013), “Felaket Kurbanlarının Kimliklendirilmesinde Diş Hekiminin Rolü ve Önemi” Bitirme Tezi, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi .

Andrade L, Bento A.M, Serra A, Carvalho M, Gamero J.J, Oliveira C, Batista L, Lopes V, Balsa F, Real F.C, Anjos M.J, (2008) “AmpFISTR MiniFiler PCR Amplification Kit: The New mini STR multiplex Kit” *Forensic Science International: Genetic Supplement Series 1* 89-91.

Aşçıoğlu F, Koluçak S.T, Çetinkaya Ü, Akyüz F. (2002). “Kapiller Elektroferez teknolojisinin Klinik ve adli Amaçlı DNA Analizlerinde Kullanımı: Geleneksel Jel Elektroferez Yöntemi ile Karşılaştırma”. *Adli Tıp Dergisi*. cilt 16, sayı 2-4 sayfa 88-93.

Avon S.L. (2004), Forensic Odontology: The Roles and Responsibilities of the Dentist. *J Can Dent.Assoc* 70 (7): 453-458.

Azlina A, Zurairah B, Ros S.M, Idah M.K, Rani S.A, (2011), “Extraction of mitochondrial DNA from tooth dentin: application of two techniques” *Archives of Orofacial Sciences*, 6 (1): 9-14.

Bilge Y. (2005), Adli Tıp Kitabı. Üçbilek Matbaası; 1. Baskı.

Bilge Y, Kedici P.S, Alakoç Y.D, Ülküer K.Ü, İlkyaz Y.Y, (2003), “The identification of a dismembered human body: a multidisciplinary approach” *Forensic Science International* 137 141-146.

Bowers C.M. (2011), *Forensic Dental Evidence: An Investigators Handbook.*, Elsevier Ltd.

Bowers C.M. (2011), *Dental Investigations in Mass Disaster Incidents. Forensic Dental Evidence.* Elsevier Ltd. Webchapter 3 e1-e15.

Budowle B. And Bechtel FS. (1990) “Modifications to Improve effectiveness of restriction fragment length polymorphism typing, appl. Theor. Electrophor, 1: 181-187

Buttler J.M. (2012), “Advanced Topics in Forensic DNA Typing: Methodology” Elsevier Inc. ISBN 978-0-12-374513-2.

Calacal G.C, Ungria M.C.A, Delfin F.C, Lara M.C, Magtanong D.L, Fortun R, “Identification of Two Fire Victims by Comparative Nuclear DNA Typing of Skeletal Remains Stored Umbilical Tissues”. *The American Journal of Forensic Medicine and Pathology* 24(2). 148-152.

Carracedo A. (1999), DNA Profiling *1st International DNA User's Conference* , 24th-26th November in Lyon's.

Cerri N, U. Ricci, A. Verzeletti, B. Falconi, F.De Ferrari, (2004), “Typing of Teeth with Two Different Amplification Systems” *International Congress Series* 1261 622-624.

Conneally PM. (1994), Human Genetic Polymorphism. Genetic Stability and Recombinant Product Consistency Dev. Biol. Stand. Basel, Karger. Edited by Brown F. Lubinieck A.S, 83:107-110.

Corach D. (1997), Additional approaches to DNA typing skeletal remains: the search for “missing” persons killed during the last dictatorship. *Electrophoresis*. 18(9):1608-12.

Datta P, Sood S, Rastogi P, Bhargava K., Bhargava D, Yadav M, (2012) “DNA Profiling in Forensic Dentistry”. *J Indian Acad Forensic Med*. April-June, Vol. 34, No. 2

Decorte R. (2010), Genetic identification in the 21st century Current status and future developments. *Forensic Science International* 201:160-164.

Desmyter S, De Greef C, (2008), “A more efficient extraction method of human bone resulting in improved DNA profiling”. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series 1* 24–25

Dönbak L. (2002), Kısa Ardarda Tekrar Eden DNA Dizilerinin Adli Amaçlı DNA Çalışmalarındaki Yeri. *T. Klin. Tıp Bilimleri (T.Clin. Med. Sci.)*, 22:233-238.

Fairgrieve S.I. (2007), “Incineration of Dental Tissues” Forensic Cremation Recovery and Analysis CRC Press. Pages: 141-159.

Frankhause D.B. (2003), Polimerase Chain Reaction Protocol. University of Cincinnati Clermont College. Bativa O.H. 45103-23 Feb.2003.1-4.

Freira J.L, Fereira A.E, Ortega A.I, (2008), “Methods for the analysis of hard dental tissues exposed to high temperatures”. *Forensic Science International* 178, 119–124.

Gaytmenn R, (2003), “Quantification of Forensic DNA from Various Region of Human Teeth”. *J Forensic Sci*. May, Vol. 48, No.3.

Gill P, Jeffreys A. And Werrett D.J. (1985), Forensic Application of DNA Fingerprints, *Nature*, 318: 577-579

Giusti A.M, and B. Budowle (1995), Chemiluminescence-based detection system for human DNA quantitation and restriction fragment polymorphism (RFLP) analysis, *Appl. Theor. Electrophor*, 5: 89-98

Goodwin W, Linacre A, Hadi S. (2007), *An Introduction to Forensic Genetics*, pp:12-13,

Gordon B.C, (1993), Archaeological tooth and bone seasonal increments: the need for standardised terms and techniques. *Archaeozoologia V/2*: 9–16.

Görmez Ö, Yılmaz H.H. (2014), Kimliklendirmede Dental Değerlendirmenin Önemi, *S.D.Ü. Tıp. Fak. Derg.* 2014:21(1)/29-34.

Graul A.I. (1989), *Polimerase Chain Technology*, 95-98.

Grue H, Jensen B. (1979), Review of the formation of incremental lines in tooth cementum of terrestrial mammals. *Danish Review of Game Biology* 117: 2–49.

Gustavson G, (1996), *Dental Identification, Forensic Odontology*. Staples Press,London.

Heeren V.F, Thorman V. (1997), Capiller elektroforesis in clinical and forensic analysis, *Electrophoresis*. 18: 2415-2426

Heinrich A, Schwark T, Simeoni E, Schwark N.W, (2009), “Genetic identification of fire deaths”. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series 2* 253–254.

Higgins D, Kaidonis J, Austin J, Townsend G, James H, Hughes T, (2011), “Dentine and cementum as sources of nuclear DNA for use in human identification” *Australian Journal of Forensic Science*. 43:4, 287-295 .

Hildebrand D. (2011), DNA for First Responders: Recognizing, Collecting and analysing Biological Evidence Related to Dentistry. *Forensic Dental Evidence*. Chapter 8 p 159-182.

Hill, A.J, Lain R, Hewson I, (2010), “Preservation of dental evidence following exposure to high temperature”. *Forensic Science International* 6185 No. of pages 4.

İmamoğlu Ö, Karapirli M, Akboyun N, (2012), “ Diş Örneklerinden DNA Elde Edilme Metotlarının Karşılaştırılması ve Adli Bilimler Açısından Değerlendirilmesi” *Adli Tıp Dergisi*. Cilt/ Vol:26, Sayı/No:1

İşcan M.Y, Altunçul H, Belli O, Konyar E. (2007), Eski İnsan Kalıntılarında DNA Çekilmesi. *Adli Bilimler Dergisi*. Mart 2007: ISSN: 1303- 6793.

Jackson D, Abbey C.S, Nugent D. (2006), DNA Profiling of the D1S80 lokus A Forensic Analysis for the Undergraduate Biochemistry Laboratories, *Journal of Chemical Education* 83(5): 774.

Jankauskas R, Barakauskas S, Bojarun R. (2009), Incremental lines of dental cementum in biological age estimation. *HOMO* Vol. 52/1, pp. 59–71.

Jeffreys AJ, Wilson V, Thein SL. (1985), Hypervariable ‘minisatellite’ regions in human DNA. *Nature*. ;314:67-73.

Jeffreys AJ. (1987), “Highly Variable Minisatellites and DNA Fingerprints”. *Biochemical Society Transactions*, 15: 309-317

Jin, L, et al. (1994), The exact numbers of possible microsatellite motifs [letter]. *American Journal of Human Genetics*, 55, 582–583.

Katırcı N. (2013) “ Felaket Kurbanlarını Kimliklendirmede Kullanılan Güvenilir Kimliklendirme Yöntemleri”

www.jandarma.tsk.tr/kriminal/turkish_internet/.../bilarinde11.doc [Erişim tarihi: 23.06.2013]

Kemp B.M, Smith D.G, (2005), “Use of bleach to eliminate contaminating DNA from the surface of bones and teeth”. *Forensic Science International* 154 53–61.

Kephart D. (1999), Rapid Isolation of Genomic DNA From Small Quantities of Human Tissue. *Profiles in DNA*, Vol.2(3):7-9.

Kilian J (1975) Age determination on teeth by means of Gustafson's method. *Scripta Medica (Brno)* 48: 197–201.

Kitayama T, Ogawa Y, Fujii K, Nakahara H, Mizuno N, Sekiguchi K., Kasai K., Yurino N, Yokoi T, Fukuma Y, Yamamoto K., Oki T, Asamuro H., Fukushima H, (2010), “ Evaluation of A New Experimental Kit For The Extraction of DNA From Bones and Teeth Using a Non-powder Method”, *Legal Medicine* 12 ,84-89.

Klug, Ws., Cummings, Mr. (2000), Genetik Kavramlar, 6. Baskı. Prentice Hall, Prof. Dr. Cihan Öner, Ankara . ABD.

Koçak A., Aktaş E.Ö. (2009), Diş Hekimleri ve Diş Hekimliği Öğrencileri için Adli Tıp. İzmir, sayfa 28-48

Landers J.P. editor (1997), Handbook of capiller electrophesis. CRC Pres. Boca Raton 45

Li W. and Graur D. (1991), Fundamentals of Molecular Evolution. Sunderland: Sinauer Associates, Inc. Publishers Chapter 2 and 8.

Li, S.F.Y. (1993), Capillary electrophoresis principles, practice and applications. *J.Chrom.* 1993; 52: 1-30.

Malaver P.C, Yunis J.J, (2003), “ Different Dental Tissues of DNA for Human Identification in Forensic Cases” *Croatian Medical Journal* 44(3):306-309.

Manjunath B.C, Chandrashekar B.R, Mahesh M, Rani R.M.V, (2011), “DNA Profiling and Forensic Denticent Concepts and Trends”. *Journal of Forensic and Legal Medicine* 18 191-197.

Mayal S.S, Agarwal P, Vashist P, (2013), “Dental DNA Finger-printing in Identification of Human remains”. *Annals of Dental Specialty* Volume 01, Issue 01

Miloš A., Selmanović A, Smajlović L, Huel R.L.M, Katzmarzyk C, Rizvić A, Parsons T.J, (2007), Success Rates of Nuclear Short Tandem Repeat Typing from Different Skeletal Elements, *Croatian Med. J.* 48 486–493

Mörnstad H, Pfeiffer H, Yoon C, Teivens A. (1999), “Demonstration and semi-quantification of mtDNA from humandentin and its relation to age”. *Int J Legal Med*; 112:98-100.

Mundorff A.Z, Bartelink E.J, Mar-Cash E, (2009), DNA Preservation in Skeletal Elements from the World Trade Center Disaster: Recommendations for Mass Fatality Management, *J. Forensic Sci.* 54 (4) 739–745.

Ohira H, Yamamuro Y, Kitagawa Y, Nakagawa K, Yamamoto I, Yamada Y, (2009), “Effective Appropriate Use of Dental Remains and Forensic DNA Testing For Personal Identity Confirmation” *Legal Medicine* 11, S560-S562.

Pereira C, Bernardo M, Mendonça M.C, (2010), “Contribution of teeth in human forensic identification – Discriminant function sexing odontometrical techniques in Portuguese population”. *Journal of Forensic and Legal Medicine* 17 105–110.

Pinchi V, Torricelli F, Nutini A.L, Conti M, Lozzi S, Norelli G. A, (2011), “Techniques of Dental Extraction: Some Operative Experiences” *Forensic Science International* 204 111-114.

Pötsch L, Meyer U, Rothschild S, Schneider PM, Rittner C. (1992), Application of DNA techniques for identification using human dental pulp as a source of DNA. *Int J Legal Med* 05:139-43.

Pretty I.A, Sweet D. (2001), A Look at Forensic Dentistry; Part1: The role of teeth in the determination of human identity, *British Dental Journal* 190(7): 359-366.

Puers, C, et al. (1993), Identification of repeat sequence heterogeneity at the polymorphic short tandem repeat locus HUMTH01[AATG]_n and reassignment of alleles in population analysis by using a locus-specific allelic ladder. *American Journal of Human Genetics*, 53, 953–958.

Raimann P.E, Picanço J.B, Silva D.S.B.S, Albuquerque T.C.K., Paludo F.J.O., Alho C.S. (2012), “Procedures to recover DNA from pre-molar and molar teeth of decomposed cadavers with different post-mortem intervals” *Archives of Oral Biology* 57,1459-1466.

Rawson R.D, Bell A. Kinard B.S, Kinard J.G, (1979), Radiographic interpretation of contrast media enhanced bitemarks. *J. Forensic Sci.* s:899-901

Real A.C, Andrade L, Anjos, M.J, Carvalho M, Vide M.C, Real F.C, Vieira D.N. (2006), “The DNA extraction from the pulp dentine complex of with and without carious” *International Congress Series* 1288 710-712.

Real A.T, Anjos M.J, Andrade L, Carvalho M, Serra A, Bento A.M, Oliveira C, Batista L, real F.C, Vieira D.N, Gamero J.J. (2008), “ Genetic Identification in Endodontic Treated Tooth Root” *Forensic Science International: Genetic Supplement Series 1..* (2008) 457-458

Real A.C, Serra A, Anjos M.J, Carvalho M, Gamero J, Vieira D.N, (2011), “ Tooth Portion Profile in Criminology” *Forensic Science International: Genetic Supplement Series 3* e433-e434.

Remualdo VR. (2004), Avaliação de três métodos de extração de DNA de dentes humanos submetidos ao calor [dissertação]. São Paulo (SP):Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo;.

Ricaut F.X, Tracqui C.K, Crubezy E, Ludes B, (2005), “STR-Genotyping from Human Medieval Tooth and Bone Samples.” *Forensic Science International* 151 31-35.

Rohland N, Hofreiter M, (2007), “ Ancient DNA Extraction from Bones and Teeth”. Nature Publishing Group <http://www.nature.com/natureprotocols> published online 12 July 2007.

Rösing Fw, Kvaal S1 (1998), Dental Age In Adults. A Review Of Estimation Methods. In Alt Kw, Rösing Fw, Teschler-Nicola M (Eds) *Dental Anthropology. Fundamentals, Limits, And Prospects.* Springer, Wien, 443–468.

Rubio L, Martinez L.J, Martinez E, Martin de las Heras, (2009), Study of Short- and Long-Term Storage of Teeth and its Influence on DNA, *J. Forensic Sci.* 54 (6) 1411–1413.

Rudbeck, L, Gilbert, M.T, Willerslev, E, Hansen, A.J, Lynnerup, N, Christensen, T, Dissing, J, (2005), mtDNA analysis of human remains from an early Danish Christian cemetery. *Am. J. Phys. Anthropol.* 128, 424e429.

Safferstein R. (2004), *Criminalistics: An Introduction to Forensic DNA Analysis*. Second Edition Pearson Prentice Hall, New Jersey. 34-50.

Sajantila A, M. Stroöm, B. Budowle, P.J. Karhunen, L. Peltonen, (1991) , The polymerase chain reaction and post-mortem forensic identity testing: application of amplified D1S80 and HLA-DQa loci to the identification of fire victims, *Forensic Sci. Int.* 51 23–34.

Sambrook J, Fritsch E.F, Maniatis T. (1989), *Spectrophotometric Determination of the Amount of DNA or RNA* . Cold Spring Harbor. Laboratory Pres, New York.

Schug G.R, Brandt E.T, Lukacs J.R, (2012), Cementum annulations, age estimation, and demographic dynamics in Mid-Holocene foragers of North India, *HOMO - Journal of Comparative Human Biology* 63. 94-109.

Schwark T, Heinrich A, Preuße-Prange A, Von Wurmb-Schwark N. (2011), “Reliable genetic identification of burnt human remains”. *Forensic Sci Int Genet.* 2011 Nov;5(5):393-9.

Shirama C.Y, Fielding C.G, Lewis J.A, Gleisner M.R, Dunn K.N. (2004) “A Minimally Destructive Technique for Sampling Dentin Powder for Mitochondrial DNA Testing”. *J Forensic Sci*, July 2004, Vol. 49, No. 4

Sparkes R, Kimpton C, Watson S, Oldroyd N, Clayton T, Barnet L, Arnold J, Thompson C, Hale R, Champman J, Urguard A, Gill P. (1996), The Validation of a 7- lokus Multiplex STR Test for Use in Forensic Casework: Mixtures, Ageing, Degradation and Species Studies, *International Journal of Legal Medicine* 109: 186-194.

Silva R.H.A, Peres A.S, Oliveira R.N, Oliveira F.T, Peres S.H.C.S, (2007), “ Use of DNA Technology in Forensic Dentistry” *J Appl Oral Sci.*; 15(3):156-161

Silva R.H.A, Queizi R, Bertolacini C.D.P, Carvalho S.P.M, Gasque K.C.S, Silva C.T.A, Bicudo L.A.R, (2012), “Human Identification Analysis Using PCR From the Root Portion of Dental Elements Under Different Conditions of Temperature and Exposure Time”. *RSBO*. Jan-Mar; 9(1):67-73

Stallibrass S. (1982), The use of cementum layers for absolute ageing of mammalian teeth: a selective review of the literature with suggestions for further studies and alternative applications. In WILSON B, GRIGSON C, PAYNE S (eds) *Ageing and sexing animal bones from archaeological sites*. BAR, BS 109, Oxford, 109–126.

Sweet D, Hildebrand D. (1998), Recovery of DNA from human teeth by cryogenic grinding, *J. Forensic Sci.* 43 (6) (1998) 1199–1202.

Tatlıcı G, Baroğlu A. (2006), Adli Bilimlerde Kapiller Elektroferez Uygulamalarında Son Gelişmeler, *Türkiye Klinikleri J Foren. Med*, 3:65-71

Thali M.J, Braun M, Markwalder T.H, Brueschiweiler W, Zollinger U, Malik N.J, Yen K, Dirnhofer R. (2003), Bitemark Documentation and Analysis: The forensic 3D/CAD supported photogrammetry approach: *Forensic Science International* 135(2): 115-121.

Tilatta F, Brousseau P, Lepereur E, Yasukawa K, Mazancourt P, (2010), “A Comparative Study of Two Methods of dental Pulp Extraction for Genetic Fingerprinting”. *Forensic Science International* 202 ,e39-e43.

Toothman M.H, Kester K.M, Champagne J, Cruz T.D, Scott Street W, Brown B.L, (2008), Characterization of human DNA in environmental samples. *Forensic Science International* 178: 7-15

Tuğ A, Yaşar F. (2006), “Felaket kurbanlarının Kimliklendirilmesi Çalışmalarında Diş Hekimlerinin ve Diş İncelemelerinin Önemi” *Hacettepe Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi.*, Cilt:30, Sayı.4, Sayfa: 77-82.

Xavier M, Bento A, Costa A, Corte-Real A, Veloso C, Sampaio L, Anjos M, Bogas V, Corte-Real F. (2011), “Primary teeth as DNA reference sample in disaster victim identification (DVI)”, *Forensic Science International: Genetics Supplement Series 3* e381–e382.

Ubalaker D.H. (2009), “The forensic evaluation of burned skeletal remains: A synthesis”. *Forensic Science International* 183 1–5.

Urquhart, A, et al. (1994), Variation in short tandem repeat sequences—a survey of twelve microsatellite loci for use as forensic identification markers. *International Journal of Legal Medicine*, 107, 13–20.

Veeraraghavan G, Lingappa A, Shankara S.P, Mamatha G.P, Sebastian B.T, Mujib A, (2010), “Determination of sex from tooth pulp tissue” *Libyan J Med*, 5:5084.

Weedn V.W, Hicks J.W, (1998), The unrealized potential of DNA testing National Institute of Justice Research in Action. USA p:1-8

Weir B.S. (1996), Genetic Data Analysis II. Method for Discrete Population Genetic Data Chapter I. 12-13, Chapter 9. 292.

Woolley A.T, Mathies R.A. (1994), Ultra high speed DNA fragment separations using microfabricated capillary array electrophoresis chips. *Biophysics Proc. Nati. Acad. Sci. USA*, Vol 91, pp 11348-11352.

Yaşar F, Hancı İ.H, Afşin H, (2001), Adli Diş Hekimliği. *STED* 2001. Cilt:10, sayı:12 450.

Yaşar Z. F., Hancı H. İ., Afşin H., Dişlerin İncelenmesinin Adli Yönden Önemi, *Adli Tıp ve Adli Bilimler*, Sayfa; 213-231, Seçkin Yayınevi, Ankara, 2002

Yılmaz E. (2006), Tanı Amaçlı Moleküler Genetik Yöntemler. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji A.B.D. Türk Farmakoloji Derneği Eğitim Sempozyumu, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi- Van

Yükseloğlu E.H. (1996) HLADQA1 Lokusunun Polimeraz Zincir Tepkimesine (PCR) Dayanan İki Farklı Teknik ile Tepkimesinin Adli Bilimler Açısından Değerlendirilmesi İ.Ü. Adli Tıp Enstitüsü Fen Bilimleri A.B.D. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.

Zeybek İ.S. (2011), Diş ve Isırık İzlerinin Adli Tıp Açısından Değerlendirilmesi. Bitirme Tezi. Ege Üniversitesi. Tıp.Fak. Adli Tıp A.B.D. İzmir.

Zeyfeoğlu H, Hancı İ.H, (2001), İnsanlarda Kimlik Tespiti. *STED* Cilt:10, sayı:10, 375.

İnternet Adresleri

<http://dc250.4shared.com/doc/S3ILG3HV/preview.html> [Erişim tarihi: 08.06.2014]

http://www.aysunigneli.com/agiz_dis_eti_dil_cene_anatomisi1.html [Erişim tarihi 02.02.2015]

EKLER

EK1



Sayı : 8267
Konu :

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ
DEKANLIĞI



İstanbul / /

03 Mart 2011

İ.Ü. Adli Tıp Enstitüsü Müdürlüğüne

İLGİ: 18.02.2011 tarihli, 255 sayılı yazınıza:

Enstitünüz Fen Bilimleri Anabilim Dalı öğretim üyesi **Yrd.Doç.Dr. Hülya YÜKSELOĞLU'nun** danışmanlığında **Doktora Öğr. Nilüfer AKMAN'nın** yürüteceği "**Adli Bilimlerde Diş Örneklerinde DNA Teknolojisinin Kullanımı**" başlıklı Doktora Tezi hakkında ilgi yazınız ve ekleri **01 Mart 2011** tarihinde toplanan Fakültemiz Klinik Araştırmalar Etik Değerlendirme Kurulunca müzakere edilmiş olup, etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir.

Bilgilerinizi, durumun adı geçen anabilim dalı başkanlığına bildirilmesini saygılarımla rica ederim.

Eki:
1 dosya

T.C. İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
Sayı : 2011-370
Tarih: 7-3-2011

Prof.Dr.Fatih ALTINDAŞ
Dekan Yardımcısı ve Klinik Araştırmalar
Etik Değerlendirme Kurulu Başkanı

Not: Yanıtlarda yazınızı gün sayısını belirtilmesi rica olunur.Tel(0212)4143000

EK2

AYDINLATILMIŞ ONAM FORMU

Bu form, İstanbul Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü Fen Bilimleri Anabilim Dalı Doktora öğrencisi, Nilüfer AKMAN tarafından hazırlanan “Adli Bilimlerde Diş Örneklerinde DNA Teknolojisinin Kullanımı” konulu tez çalışması ile ilgilidir.

Bu araştırmada, gönüllü katılımcılardan gerekli materyaller alınıp laboratuvar ortamında DNA’ları izole edilerek, tiplendirme yapılacaktır.

Bu çalışma, DNA için oldukça korunaklı bir yapı oluşturan ve farklı çevresel koşullara maruz bırakılarak bekletilen diş örneklerinin yapısındaki farklı dokulardan elde edilebilecek DNA’ların adli olaylarda kimliklendirmede kullanılmasının uygunluğunu test etmek amacıyla yapılacaktır.

Çalışmaya katılacak gönüllü sayısı, 100 olarak belirlenmiştir. Araştırmanın katılımcıya herhangi bir etkisi yoktur. Gönüllü, araştırmaya katılmayı red etme hakkına sahiptir. Gönüllü, istediği anda araştırmacıya haber vererek araştırmadan çekilmek isteyebilir ve araştırmacı, katılımcının örneklerini derhal imha edecektir. Ayrıca, araştırmacı tarafından da gerek görüldüğünde katılımcının araştırma dışı bırakılacağı bildirilebilir.

Gönüllü katılımcı, araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmeyecektir. Ayrıca kendisine bir ödeme yapılmayacaktır.

Gönüllü katılımcılardan alınacak numuneler (diş ve ağız içi ağız içi sürüntü örnekleri) yalnızca adı geçen çalışmada, araştırmacı tarafından ve adı geçen yöntemler için kullanılacaktır. Bu çalışmada kimliklendirme yapılmayacaktır.

Gönüllü katılımcının kimlik bilgileri son derece gizli tutulacaktır ve hiçbir surette kimse ile paylaşılmayacaktır. Bilgilerin kullanımında şifre kullanılacaktır. Katılımcının çalışmadan herhangi bir neden ile ayrılması durumunda; tüm kayıtları silinecektir.

Doktora öğrencisi Sayın Nilüfer AKMAN DOĞAN tarafından İ.Ü. Adli Tıp Enstitüsü Fen Bilimleri Anabilim Dalı’nda yapacak olduğu “Adli Bilimlerde Diş Örneklerinde DNA Teknolojisinin Kullanımı” konulu doktora tezi için yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya “katılımcı” (denek) olarak davet edildim.

Eğer bu araştırmaya katılırsam araştırmacı ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılacağına inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemin uygun olacağının bilincindeyim).

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır. İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim.)

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun araştırmacı ile olan ilişkime herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde “katılımcı” (denek) olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum. İmzalı bu form kâğıdının bir kopyası bana verilecektir.

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün

Adı-Soyadı:

Yaşı:

Tarih:

İmza:

İletişim Adresi:

Telefonu:

Araştırmacının

Adı-Soyadı: Nilüfer AKMAN DOĞAN

İmzası:

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Nilüfer AKMAN DOĞAN
T.C. Kimlik No : 37259062688
Doğum Tarihi : 07.09.1981
Doğum Yeri : Eskişehir
Medeni Durumu : Evli
Ev Adresi : Küçükyalı Merkez Mah. Gülistan Sok. Deşen Apt. No: 4/8
Mobil Telefon : 0 505 3581591
E-mail : nilufer.akman@gmail.com, nakman@gyte.edu.tr
Halen Görevi : Uzman, Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü/Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü
Görev başlangıcı : 28.05.2009

Eğitim Geçmişi

1991-1995 Eskişehir Atatürk Ortaokulu
1995-1999 Afyon Yabancı Dil Ağırlıklı Lisesi
1999-2004 Marmara Üniversitesi (Lisans- Not Ort: 78,39/100)
Atatürk Eğitim Fakültesi
Biyoloji Öğretmenliği (Tezsiz Yüksek Lisans Programı)
2005-2007 Gazi Üniversitesi (Yüksek Lisans- Not Ort: 86,00/100)
Eğitim Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Öğretmenliği
2007-.... İstanbul Üniversitesi (Doktora- 3,44/4,00)
Adli Tıp Enstitüsü
Fen Bilimleri Ana Bilim Dalı

İş Geçmişi

2004- 2005 Afyon Işıklar İlköğretim Okulu/ Fen Bilgisi Öğretmeni
2005-2006 Afyon Salar İlköğretim Okulu/ Fen Bilgisi Öğretmeni
2006-2007 Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü/ Rektörlük/ Memur
(KPSS: 90)
2009- 2012 Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü/ Öğrenci İşleri Dairesi Başkanlığı/
Uzman

2012-... Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü/ Moleküler Biyoloji ve Genetik
Bölümü /Uzman

Yabancı Diller

İngilizce: İyi (KPDS: 66, ÜDS:68)

Bilgisayar Bilgisi:

Microsoft Office, SPSS

Aldığı Burslar

2007- 2011 TÜBİTAK- BİDEB 2211- Yurt İçi Doktora Burs Programı
(ALES: 83,152)

Ulusal Kongre ve Kurslar

- 1- 2. Ulusal Moleküler Biyoloji ve Genetik Öğrenci Kongresi (2008)
- 2- Euroforensics 4. Uluslararası Adli Bilimler, Siber Güvenlik ve Gözetim Teknolojileri Konferans & Sergisi (2013)

Bilimsel Çalışmalar

Yüksek Lisans Tezi

Ortaöğretimde insanda destek ve hareket sistemleri konusunun çoklu zeka temelli işlenmesinin öğrenci başarısı üzerine etkisi [The effects of teaching the subject of human`s support and movement system on the student`s success based on multiple intelligence theory at high education], Gazi Üniversitesi, 2007

Doktora Tezi

Adli Bilimlerde Diş Örneklerinde DNA Teknolojisinin Kullanımı [DNA Technology in Forensic Science in the Use of Dental Representative] (halen devam ediyor)

Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (Proceedings) basılan bildiriler

1- Nilüfer Akman Doğan, M. Özlem Kulusayın, İtir Erkan, Tolga Zorlu, Gülten Rayimoglu, Özlem Bülbül, Emel Hülya Yükseloğlu, Ali Volaka “The Use of Forensic Genetic Analysis in Dental Samples For Crime Scene Investigation: A Modelling Study”, 25th World Congress of the International Society For Forensic Genetics (ISFG), 2-7 Eylül 2013, Melbourne, Avustralya.

Referanslar

Prof.Dr. Sönmez Girgin (Gazi Üniversitesi)

Doç.Dr. Emel Hülya Yükseloğlu (İstanbul Üniversitesi)

Prof.Dr. Alınur Büyükaksoy (Okan Üniversitesi- Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü eski rektörü)